Série H
n° d'ordre
1187

N° d'enregistrement
du Centre National de la Recherche
Scientifique

AO 9048

THESE

PRESENTEE

A L'UNIVERSITE DE PARIS XI
CENTRE D'ORSAY

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ES_SCIENCES NATURELLES

PAR

Roger BLUZAT

Etude expérimentale de la radiosensibilité embryonnaire du Doryphore, Leptinotarsa decemlineata SAY.

(Coleoptère, Chrysomelide.)

Soutenue le 30 novembre 1973 devant la commission d'examen

MM. L. GALLIEN — Président
Th. LENDER — Rapporteur
J. BERGERARD
J. BRACHET — Examinateurs
G. SIMONET

N° d'enregistrement
du Centre National de la Recherche
Scientifique

AO 9048

THESE

PRESENTEE

A L'UNIVERSITE DE PARIS XI
CENTRE D'ORSAY

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ES_SCIENCES NATURELLES

PAR

Roger BLUZAT

———◇◆◇———

Etude expérimentale de la radiosensibilité embryonnaire du Doryphore, Leptinotarsa decemlineata SAY.

(Coleoptère, Chrysomelide.)

———◇◆◇———

Soutenue le 1973 devant la commission d'examen

MM. L. GALLIEN — Président
Th. LENDER — Rapporteur
J. BERGERARD
J. BRACHET
G. SIMONET — Examinateurs

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A V A N T - P R O P O S

Monsieur le Professeur, J. BERGERARD m'a accueilli dans son Laboratoire et m'a confié ce sujet de recherches. Il m'a toujours accordé avec beaucoup de bienveillance les moyens techniques et matériels ayant permis la réalisation de ce travail. Je n'oublie pas ses conseils et encouragements qui m'ont incité à persévérer dans les périodes de découragement. Qu'il soit ici assuré de l'expression de ma profonde gratitude.

Je suis très reconnaissant à Monsieur le Professeur L. GALLIEN, Membre de l'Institut, qui m'a permis de découvrir et aimer l'embryologie expérimentale au cours de son enseignement, de l'honneur qu'il me fait en acceptant la présidence de mon jury de thèse.

Que Monsieur le Professeur J. BRACHET qui m'a accueilli dans son Laboratoire de l'Université Libre de Bruxelles et a bien voulu accepter de venir participer à mon jury de thèse, trouve ici l'expression de ma respectueuse reconnaissance.

Que Monsieur le Professeur Th. LENDER soit ici sincèrement remercié d'avoir accepté de juger mon travail.

Je tiens aussi à assurer de ma reconnaissance Monsieur G. SIMONET car il m'a fait partager ses connaissances approfondies des problèmes de radiobiologie.

Je remercie Madame le Professeur A. FICQ des conseils judicieux qu'elle m'a aimablement prodigués.

L'aide de mes collègues m'a été souvent profitable, en particulier celle de Monsieur C. MAISONHAUTE, je leur adresse mes remerciements sincères et amicaux.

Je n'oublie pas tous les membres du Laboratoire de ZOOLOGIE qui, à des titres et des moments divers, m'ont apporté un précieux concours dans la réalisation de ce travail. Je tiens à leur exprimer ici mes sincères remerciements.

S O M M A I R E

Pages

AVANT-PROPOS

SOMMAIRE

CHAPITRE I Introduction 1

CHAPITRE II Matériel et techniques

2.1 Conditions d'élevage du Doryphore 4

2.2 Chronologie du développement embryonnaire 5

2.3 Irradiations localisées : rayons X 8

2.4 Irradiations totales : rayons γ 9

2.5 Techniques histologiques 9

2.6 Autoradiographies 10

CHAPITRE III Comparaison de la radiosensibilité cellulaire et cytoplasmique

3.1 Structure de l'oeuf aux stades irradiés 12

3.2 Structure des gonades à l'éclosion 13

3.3 Doses nécessaires pour obtenir des gonades agamétiques 14

3.4 Conclusions générales 16

CHAPITRE IV Evolution de la radiosensibilité au cours de l'embryogenèse

4.1 Courbes effet-dose déterminées à divers stades 20

4.2 Radiosensibilité mesurée par la DL 50 24

4.3 Radiosensibilité mesurée par les paramètres des courbes de survie en coordonnées semi-logarithmiques . 25

4.4 Conclusions 26

.../...

Pages

CHAPITRE V Etude de la radiosensibilité au cours de la segmentation : première période de radiosensibilité maximale

5.1 Variations de la radiosensibilité 27
5.2 Stades d'arrêt du développement embryonnaire 31
5.3 Discussion et conclusions : origine et importance relative des deux types de mortalité 34

CHAPITRE VI Etude de la deuxième période de radiosensibilité maximale

6.1 Résultats après application de trois doses subléthales 37
6.2 Blocage du développement embryonnaire après application d'une forte dose 38
6.3 Notion de tissu-cible 39
6.4 Discussion des résultats et conclusion 40

CHAPITRE VII Limites des possibilités de développement larvaire après irradiation de l'oeuf

7.1 Mortalité larvaire en fonction du stade embryonnaire irradié 42
7.2 Radiorésistance particulièrement élevée du début de la segmentation 43
7.3 Caractère précoce ou tardif de la mortalité larvaire. 44
7.4 Conclusions 45

CHAPITRE VIII Fécondité des imagos issus d'embryons irradiés (croisement entre eux)

8.1 Irradiation totale 47
8.2 Irradiation partielle 49
8.3 Conclusions 53

CHAPITRE IX Fixation d'actinomycine D tritiée au cours de l'embryogenèse

9.1 Intérêt de la méthode 54
9.2 Fixation de l'actinomycine D tritiée au niveau des noyaux 55
9.3 Fixation de l'actinomycine D tritiée au niveau du vitellus 55
9.4 Conclusion : parallélisme entre la fixation d'actinomycine D et la radiosensibilité 56

.../...

Pages

CHAPITRE X Conclusions générales

10.1 Structure du déterminant général 57

10.2 Evolution de la radiosensibilité au cours de l'embryogenèse 60

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548022_0012

CHAPITRE I

INTRODUCTION

L'utilisation des rayonnements ionisants constitue un outil de choix pour le biologiste qui cherche à élucider l'enchainement des processus qui se succèdent au cours de l'embryogenèse ; nous savons maintenant qu'ils lui permettent de provoquer des lésions, malheureusement non spécifiques, au niveau des structures moléculaires qui contrôlent ces processus.

Les premières recherches relatives aux variations de la radiosensibilité au cours de l'embryogenèse des Insectes sont dues à PACKARD (1926 et 1935) et HENSHAW (1933 et 1935) chez Drosophila, à SCOTT (1934) chez Calliphora et à EVANS (1935 et 1937) chez Melanoplus. Ces travaux indiquent que, si d'une façon générale la radiosensibilité diminue au cours de l'embryogenèse, il existe des périodes plus radiosensibles.

Pour HENSHAW, la période la plus radiosensible se situe à la fin de la segmentation et au stade jeune blastoderme ; au contraire, quelques heures plus tard, la gastrulation apparaît comme une période beaucoup moins sensible. PACKARD et SCOTT établissent que la radiosensibilité augmente au cours de la segmentation. Ces auteurs attribuent la grande radiosensibilité de la phase de segmentation au rythme très élevé des mitoses, caractéristique essentielle de cette période.

SCOTT, chez Calliphora, et EVANS, chez Melanoplus , indiquent l'existence d'une deuxième période de grande radiosensibilité correspondant à la gastrulation. Sur ce point, les résultats sont donc contradictoires selon les auteurs et l'insecte utilisé. Il est bon de préciser que le phénomène de rétention de ponte, si aigu chez les

Diptères, explique sans doute certaines contradictions.

L'analyse des travaux récents montre qu'au début de l'embryogenèse la DL 50 (dose léthale pour 50% des oeufs irradiés) varie en fonction des auteurs et de l'insecte utilisé : 150 r chez Locusta (COLOMBO, 1959), Acheta (BLUZAT, 1964) et Drosophila (AMMON, 1964), 200 r chez Habrobracon (AMY, 1955), 300 r chez Gryllus (SERENO, 1960), 450 r chez Drosophila (ULRICH, 1953 et 1954) et même 1 400 r chez Acheta (HEINIG, 1967)

Pour certains auteurs, la radiosensibilité s'accroît au cours de la segmentation : SERENO (1960) chez Gryllus, HEINIG (1967) chez Acheta, AMMON (1964) et HILDRETH (1967) chez Drosophila. Personnellement (BLUZAT, 1964), chez Acheta domesticus, nous n'avons pas pu aboutir à une conclusion claire au sujet des premières heures de l'embryogenèse à cause de la grande hétérogenéité du matériel, phénomène qui reste actuellement mal expliqué (COUNCE, 1972). L'augmentation de la radiosensibilité au cours de la segmentation demeure une conclusion controversée par certains travaux : ceux de COLOMBO (1959) chez Locusta, de WURGLER et al (1963) chez Drosophila et de MURAKAMI et TEULADE (1969) chez Bombyx.

L'existence d'une deuxième période très radiosensible, postérieure à la gastrulation, semble liée à la différenciation de la bandelette embryonnaire : COLOMBO (1959) chez Locusta, SERENO (1960) chez Gryllus, HILDRETH (1967) chez Drosophila et TEULADE (1968) chez Bombyx. Chez Acheta domesticus, SCHWALM (1965) et HEINIG (1967) attribuent le retard, provoqué par une irradiation intervenue au moment de la formation de l'écusson embryonnaire, au remplacement des cellules embryonnaires lésées par des vitellophages et des cellules de la séreuse. La constitution d'un embryon secondaire de ce type après une irradiation reste actuellement, à notre avis, une interprétation qui demande confirmation.

Une irradiation, pratiquée au début de la segmentation, n'empêche pas celle-ci de se poursuivre, mais, en règle générale, le développement embryonnaire ne se déroulera pas au-delà du stade blastoderme : CLARK et MITCHELL (1952) et VON BORSTEL (1955) chez Habrobracon,

BLUZAT (1964)chez Acheta, SCHNEIDER-MINDER (1966) chez Drosophila. Par contre, quand le blastoderme est déjà constitué lors de l'irradiation, l'arrêt de l'embryogenèse ne se produit que tardivement après un développement plus ou moins aberrant : SCHNEIDER-MINDER (1966) chez Drosophila, SCHWALM (1965) et HEINIG (1967) chez Acheta.

Ayant constaté la complexité des données acquises et leur caractère parfois contradictoire, nous avons cherché à réaliser un travail de synthèse, liant l'évolution de la radiosensibilité aux divers processus qui constituent l'embryogenèse. A cette fin, le choix du Coléoptère Leptinotarsa decemlineata nous a paru judicieux pour plusieurs raisons :

- son embryogenèse est bien connue depuis les expériences de HAGET (1953a) ;
- son élevage en laboratoire permet d'obtenir des lots importants d'oeufs du même âge, se développant de manière synchrone ;
- un travail complémentaire au nôtre est poursuivi dans le Laboratoire par MAISONHAUTE (1971).

Avant d'étudier, avec précision, les variations de la radiosensibilité en fonction du stade embryonnaire irradié et les arrêts du développement consécutifs à une irradiation léthale, il nous a paru indispensable de vérifier qu'il était possible de provoquer des lésions au niveau nucléaire sans altérer notablement les structures cytoplasmiques. OKADA (1970), dans une synthèse des travaux relatifs à ce sujet, montre que, si le noyau cellulaire est toujours beaucoup plus sensible que le cytoplasme, la différence varie énormément en fonction du matériel biologique et du type de rayonnement utilisés. L'irradiation localisée du pôle postérieur de l'oeuf, avant ou après l'arrivée des noyaux de segmentation dans cette région, nous a semblé être une bonne méthode pour comparer la radiosensibilité des informations situées dans le cytoplasme (déterminant germinal) à celle des informations situées au sein des noyaux.

CHAPITRE II

MATERIEL ET TECHNIQUES

2.1 Conditions d'élevage du Doryphore.

Ces conditions sont très proches de celles décrites par HAGET en 1953. Les imagos sont placés dans des cages en bois ou en métal, munies de panneaux en verre ou en altuglass. Ils sont nourris avec du feuillage de pomme de terre, renouvelé chaque matin. Les pommes de terre sont cultivées soit en serre soit en plein air en fonction de la saison. Le feuillage est disposé en bouquets et nous veillons à ce que les extrémités des tiges trempent dans l'eau afin d'éviter un flétrissement prématuré. Les cages sont placées dans des enceintes où la température et la photopériode sont contrôlées. Les conditions d'éclairement les plus favorables sont les plus proches de celles du début de l'été : photopériode de 17 heures.

Pour la température, deux méthodes se révèlent très favorables :

- soit une température constante de 25° C,
- soit l'alternance d'une température de 28°C, pendant la phase éclairée, et d'une température de 15°C pendant la phase obscure.

L'avantage de cette dernière méthode est le groupement des pontes pendant la période d'éclairage, la seule utilisable pour l'expérimentateur.

Les femelles pondent à la face inférieure des feuilles ; en règle générale nous recueillons les oeufs toutes les deux heures. Ils sont placés aussitôt, avec les feuilles qui les portent, dans une enceinte dont la température est rigoureusement contrôlée puisqu'elle est elle-même située dans une pièce climatisée.

Un peu avant l'éclosion, les larves sont placées sur des feuilles fraîches afin d'éviter le phénomène d'adelphophagie. Les quatre

stades larvaires se déroulent en deux semaines environ à 25°C, puis les L_4 s'enfoncent dans du terreau mélangé de sable pour y accomplir leur nymphose (2 semaines).

Afin de disposer d'un nombre important d'imagos dès le printemps, nous gardons en réserve, en chambre froide, des imagos entrés en diapause au cours de l'été : la diapause est facilement provoquée en plaçant les animaux à 20°C avec une photopériode de 12 heures. Dans nos expériences, les principaux résultats ont été obtenus à l'époque la plus favorable pour l'élevage du Doryphore, c'est-à-dire essentiellement entre le 20 Avril et le 20 Juillet ; dans ces conditions, la fertilité des pontes varie entre 95% et 100%, et les séries expérimentales où les pontes témoins ne présentaient pas au moins 95% d'éclosions ont été systématiquement éliminées.

2.2 Chronologie du développement embryonnaire en fonction de la température d'incubation.

Deux températures d'incubation ont été utilisées :

- à 25°C ($\pm$ 0,5), l'éclosion se produit après 5 jours de développement ;
- à 17,5°C ($\pm$ 0,5), l'éclosion se produit après 11 jours de développement.

Le tableau (2 - 1), résumant la chronologie du développement embryonnaire du Doryphore à 25°C et 17, 5°C, est établi à partir des observations de HAGET (1953 a) et MAISONHAUTE (1966).

Tableau n° 2 - 1.

Chronologie du développement embryonnaire de Leptinotarsa decemlineata Say.
(D'après les travaux de HAGET et MAISONHAUTE).

Principaux événements de l'embryogenèse		Temps de développement en fonction de la température en heures ou en jours à 25°C	à 17,5°C
Fécondation et ponte		0 h	0 h
Segmentation			
Nombre de noyaux	Cycles mitotiques		
	1 er	2 h	4 h
2			
	2ème	2 h 50	6 h
4			
.			
.		Mitoses espacées de	
.		0 h 50	2 h
.	7ème	6 h 40	16 h
128			
	8ème	7 h 30	18 h
256	Fin de la synchronie		
	9ème	8 h 20	20 h
≃ 500			
	10ème	9 h 10	22 h
≃ 1 000	Energides au contact du périplasme		
	11ème	10 h	24 h
		Premier ralentissement du rythme mitotique	
≃ 2 000	Noyaux dans le périplasme		
	12ème	12 h 15	29 h
≃ 4 000	Jeune blastula 13ème	14 h	34 h
		Deuxième ralentissement du rythme mitotique	
≃ 8 000	Blastula moyenne 14ème	18 h 50	45 h
≃16 000	Blastula âgée		
	Cellularisation achevée.		
	Cellules polaires visibles au pôle postérieur . . .	20 h	48 h

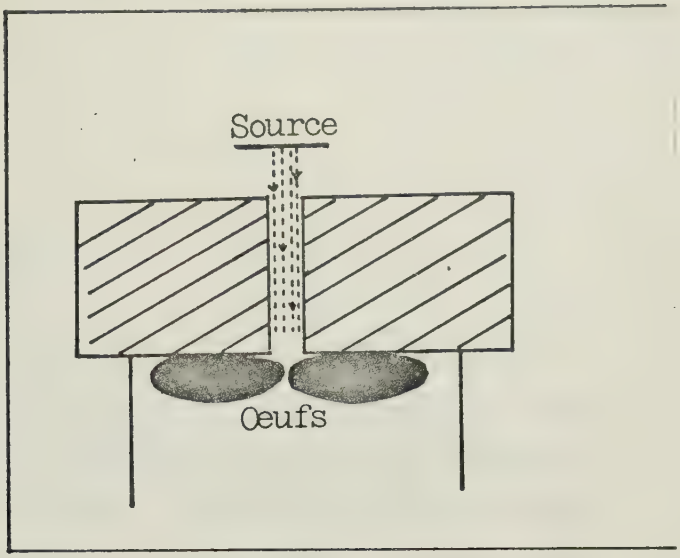
Tassement des cellules dans la région médio-latérale : premier mouvement visible de la gastrulation	24 h	55 h
Début de la migration des cellules polaires postérieures		
Ecusson embryonnaire avec mitoses dans la future région céphalique	27 h	60 h
Sillon gastrulaire bien visible	29 h	64 h
Invagination de la région postérieure du germe dans le vitellus	30 h 30	67 h
Etalement de l'embryon sur le vitellus : bandelette embryonnaire	33 h	72 h
Bandelette segmentée, apparition des ébauches des appendices	35 h	77 h
Crêtes neurales visibles : multiplication des neuroblastes. Début de creusement du mésoderme.		
Invagination du stomodéum et du proctodéum	48 h	4 j 1/2
Système nerveux et stigmates visibles, vésicules coelomiques nettes	2 j 1/2	5 j 1/2
Prolifération de la lame endodermique		
Croissance des flancs de l'embryon et enveloppement du vitellus	3 j	6 j et 15 h
Constitution de l'intestin moyen.		
Ebauches musculaires reconnaissables.		
Achèvement de la capsule céphalique puis fermeture dorsale	4 j	8 j et 20 h
Edification du coeur.		
Pigmentation des ocelles, des stigmates, des ruptores ovi, des mandibules et des griffes.		
Eclosion : . . . . . (toutes les éclosions d'une même ponte se produisent en 2 ou 3 heures à 25°C et en 4 à 5 heures à 17,5°C).	5 j	11 j

2.3 Irradiations localisées : rayons X. (Fig. 2-1)

Les irradiations localisées sont pratiquées avec un émetteur de rayons X peu pénétrants : "rayons X mous". L'appareil utilisé est un tube de HOLWECK à vide entretenu par pompage constant, situé dans le service du Docteur LATARJET à l'Institut du Radium (Paris). L'anticathode est en molybdène et la fenêtre en aluminium n'a que 0,05 mm d'épaisseur. L'appareil fonctionne sous une tension de 37,5 KV avec une intensité comprise entre 15 et 36 mA. Dans ces conditions, la couche de demi-absorption est égale à 1 mm d'eau. La dosimétrie, effectuée d'une part par la mathode chimique avec le sulfate ferreux (méthode de FRICKE), et d'autre part avec un dosimètre Philips, indique un débit de :

- $3.\ 10^3$ roentgens par minute à 118 mm de la fenêtre pour une intensité de 15 mA,
- $8.\ 10^4$ roentgens par minute à 13 mm de la fenêtre pour une intensité de 36 mA.

Les oeufs sont placés sur une plaque de plomb, épaisse de 5 mm et enduite d'une mince couche de graisse à vide nécessaire pour maintenir les oeufs contre la plaque lorsque nous la retournons. Cette plaque est percée de canaux ayant 0,5 mm de diamètre au moyen de fins forets. Les oeufs sont placés deux par deux en face de chaque canal ; seul, le pôle postérieur de chaque oeuf (1/8 de la longueur totale) est atteint par les rayons X lorsque la plaque, retournée et déposée sur une enceinte de plomb épaisse de 10 mm (voir schéma ci-contre), est placée sous le tube. De nombreux essais se sont révélés infructueux avec d'autres dispositifs expérimentaux ; les échecs sont dus soit à une épaisseur insuffisante de la plaque de protection, soit à l'absence de l'enceinte en plomb sur laquelle celle-ci est placée : dans ce dernier cas, une irradiation parasite par réflexion (environ 5‰ de la dose incidente) entraine l'échec de l'embryogenèse lorsque la dose utilisée dépasse 10^5r. Les doses comprises entre 10^3r et $3.\ 10^4$r ont été délivrées avec un débit constant de $3.\ 10^3$r/mn : les durées d'irradiation s'étagent de 20 s à 10 mn.
Les doses comprises entre $2,\ 5.\ 10^5$r et 10^7r ont été délivrées avec un débit constant de $8.\ 10^4$r/mn : les durées d'irradiation s'étagent alors de 3 mn 20 s à 2 h 5 mn. Toutes les irradiations se sont déroulées à une température voisine de 23°C.



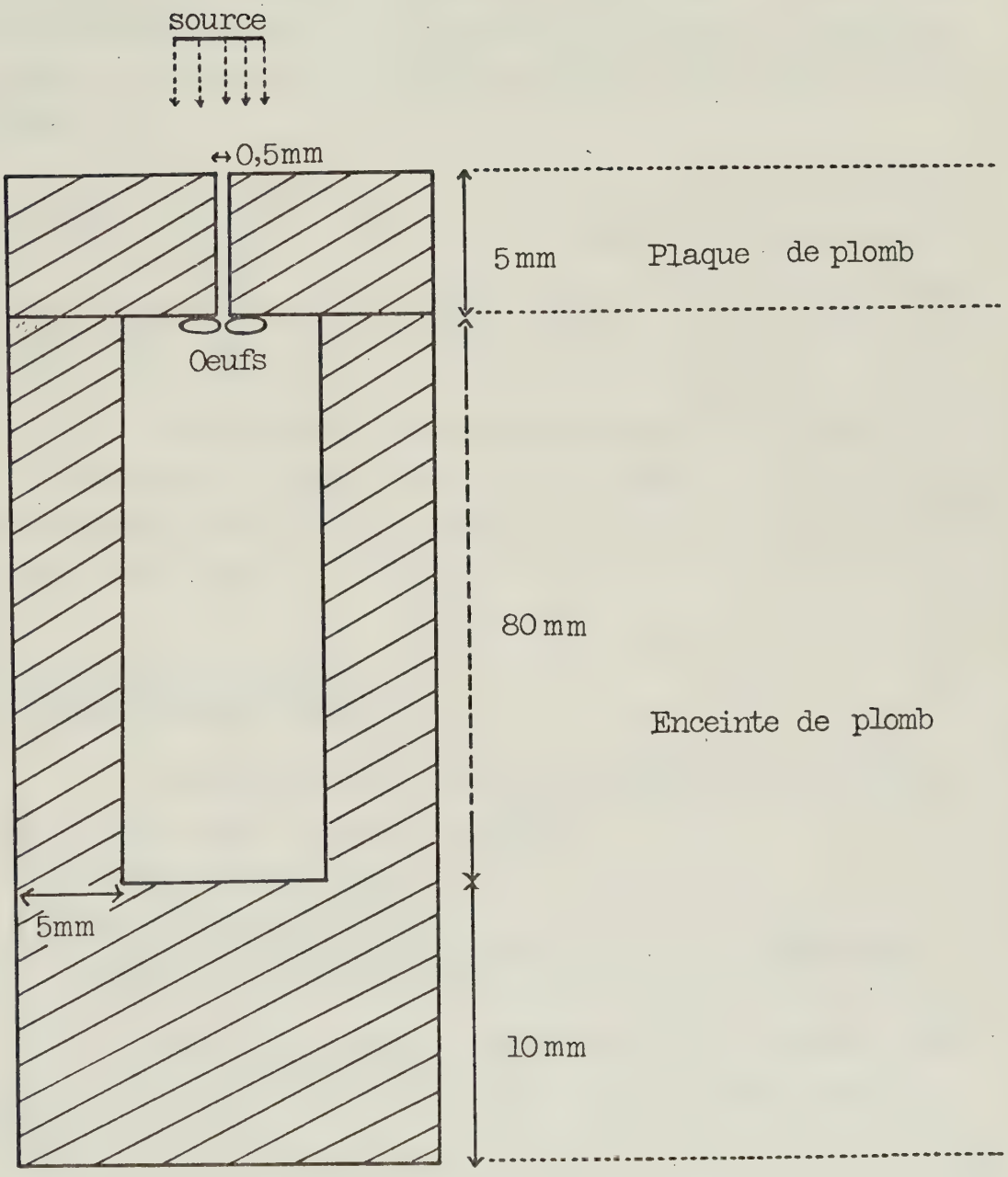


Schéma du dispositif d'irradiation localisée.(Rayons X.)

2.4 Irradiations totales : rayons X.

Les irradiations totales sont effectuées dans le coeur d'une bombe au cobalt. Deux bombes de ce type ont été utilisées au cours de nos expériences : la première est située au Département de Biologie du C.E.A. (C.E.N. de Saclay), la deuxième à l'Institut du Radium (Orsay). Nous admettons que la dose de rayonnement, absorbée par les oeufs, est équivalente à celle absorbée, dans les mêmes conditions, par une solution aqueuse très diluée d'ions ferreux (méthode de dosimétrie chimique de FRICKE).

Dans la première bombe, 10^3 rads sont délivrés en 106 secondes au début des expériences, en 200 s à la fin. Dans la seconde bombe, utilisée seulement pour les doses égales ou supérieures à $5.\ 10^3$r, le débit est beaucoup plus élevé : 10^3r en 19 secondes à la fin des expériences.

Les irradiations, intervenues au cours de la segmentation, ont été pratiquées à une température de 13°C, température voisine du zéro de développement ; ces conditions permettent de pratiquer les irradiations par séries, sans troubler la datation des oeufs.

2.5 Techniques histologiques

Les fixations des oeufs et des larves ont été effectuées à froid (4°C) avec le fixateur de CARNOY :

1 volume d'acide acétique,
3 volumes de chloroforme,
6 volumes d'alcool éthylique absolu ou d'alcool méthylique pur.

Les temps de fixation varient entre 1 et 6 heures. Dans le cas des larves, nous utilisons une enceinte à vide (trompe à eau).

Après rinçage par l'alcool absolu, les larves et les oeufs demeurent dans l'alcool butylique primaire pendant 3 jours au moins avant l'inclusion dans la paraffine (avec ou sans passage dans 2 bains de benzène).

Les coupes, épaisses de 6 ou 7µ, sont colorées par diverses méthodes classiques :

- hémalum - éosine,
- feulgen après hydrolyse acide,
- vert de méthyle-pyronine selon UNNA,
- érythrosine-aurantia - orangé G et bleu de Toluidine.

Il faut noter que les coupes d'oeufs sont toujours demeurées de qualité médiocre malgré nos efforts :

- destruction mécanique du chorion des oeufs,
- longs séjours dans l'alcool butylique,
- variations de la durée de trempage dans la paraffine fondue,
- utilisation de paraffine spéciale, soit très dure, soit souple (paraplaste).

L'obstacle est constitué par le vitellus des oeufs qui provoque des cassures ou des écrasements plus ou moins marqués des tissus embryonnaires au moment de la confection de la coupe.

2.6 Autoradiographies.

Les oeufs sont fixés à froid pendant une heure dans un mélange acide acétique (1 volume), alcool éthylique à 96° (3 volumes). Après rinçage dans 3 bains d'alcool absolu, ils sont éclaircis rapidement dans 2 bains de 10 mn de benzène et inclus à la paraffine.

Les coupes, épaisses de 10 µ , sont montées sur des lames gélatinées au préalable et séchées à l'abri de la poussière. Après déparaffinage,elles sont incubées dans une solution aqueuse d'actinomycine D tritiée, puis recouvertes de gel pour autoradiographie selon la technique de FICQ (1959 et 1961).

L'activité spécifique de l'actinomycine D tritiée utilisée (SCHWARZ. Bio. Research. Inc., Orangeburg, N.Y. U.S.A.) était de 8,4C/mMole. L'incubation dure 90 mn dans une solution ayant une activité de 3 µ C/ml.

Les lames sont ensuite rincées à l'eau courante pendant une nuit et enfin à l'eau distillée (3 fois 20mn). Après séchage, les lames sont recouvertes de quelques gouttes de gel dilué (2/3 de gel, 1/3 d'eau) et tiédi au bain-marie ; nous avons utilisé le gel L_4 "in gel form" de Ilford. L'exposition se prolonge pendant 4 jours à 4°C. La révélation est effectuée en 20 mn, à 14°C avec le révélateur à l'amidol (formule de DILWORTH). Les autoradiographies sont enfin fixées, rincées puis colorées au vert de méthyle-pyronine (méthode d'UNNA) après un séjour d'une nuit dans un bain d'alcool à 96°C, destiné à faciliter la coloration à travers la gélose. Après une déshydratation qui doit être effectuée avec beaucoup de soins, les coupes sont montées au baume du Canada.

Les autohistoradiographies obtenues sont examinées en microscopie photonique et le comptage des grains effectué à fort grossissement (objectif x 100 à immersion, oculaire x 25).

CHAPITRE III

COMPARAISON DE LA RADIOSENSIBILITE CELLULAIRE ET CYTOPLASMIQUE.

3.1 Structure de l'oeuf aux stades irradiés : (Planches 2 et 3)

Trois stades embryonnaires sont irradiés :

3.1.1 Oeufs âgés au plus de 4 heures à 25°C : l'irradiation intervient avant le stade 16 noyaux intravitellins. Les noyaux sont encore très proches du centre de l'oeuf. La zone polaire postérieure soumise à l'irradiation n'en contient aucun. La zone de pénombre est dans la même situation.

L'irradiation est strictement limitée, dans ces conditions, à une zone cytoplasmique dépourvue de noyaux.

3.1.2 Oeufs âgés de 24 h à 16° C : l'irradiation intervient juste avant la pénétration des noyaux de segmentation dans le périplasme : stade préblastoderme. A ce stade, aucune membrane cellulaire ne sépare les noyaux : l'oeuf constitue encore un syncytium. La zone directement exposée et la zone de pénombre contiennent toutes les deux des noyaux.

L'irradiation concerne donc des noyaux qui n'ont pas encore pénétré dans l'ooplasme et des noyaux qui n'y pénètreront jamais : vu la forme de l'oeuf, il est impossible de limiter l'irradiation aux noyaux du premier type.

3.1.3 Oeufs âgés de 48 heures à 16°C : l'irradiation intervient après achèvement de la segmentation superficielle. A ce stade, la "cellularisation" du germe est accomplie : blastula âgée. La zone directement exposée et la zone de pénombre contiennent toutes les deux des

cellules embryonnaires de 2 sortes :

- les cellules polaires qui ont incorporé l'ooplasme mais dont l'isolement n'est pas aussi prononcé sur ce matériel que chez les Diptères,
- des cellules blastodermiques.

L'irradiation des seules cellules polaires postérieures se révèle impossible techniquement et les cellules blastodermiques voisines ne peuvent pas être épargnées.

3.2 Structure des gonades à l'éclosion : (Planche I)

3.2.1 Témoins : Les travaux anciens de WHEELER (1889), HEGNER (1909) et PATAY (1939) ont montré que les gonades de la larve naissante du doryphore se présentent sous deux aspects selon le sexe :

- deux masses ovoïdes chez la femelle,
- deux haltères chez le mâle.

Les gonades sont situées dans la partie postérieure de l'abdomen, en position latéro-dorsale par rapport à l'intestin moyen. Elles sont entourées d'une gaine de grosses cellules adipeuses. RICHARD-MERCIER (1972) précise que leur différenciation en fonction du sexe se produit dès 5 jours de développement à 22°C (sur 7 au total) ; elle est due aux remaniements de la masse mésodermique dorsale, elle-même issue de la splanchnopleure dorsale.

HAGET (1953 b) et nous-mêmes (1968) avons souligné qu'à l'intérieur de la gaine mésodermique de chaque gonade, on distingue deux catégories cellulaires (observation confirmée par RICHARD-MERCIER, 1972) :

1) des petites cellules d'origine mésodermique ; ce sont les cellules interstitielles, plus nombreuses dans le testicule que dans l'ovaire (RICHARD-MERCIER, 1972).

2) des grosses cellules caractérisées par la présence d'un noyau sphérique très volumineux (diamètre $\simeq$ 10 µm) faiblement colorable et contenant un gros nucléole ; la chromatine est répartie en petits paquets contre la membrane nucléaire et le cytoplasme ne constitue qu'une mince couche très basophile (coloration intense par le bleu de toluidine). Ces

cellules, gonies primordiales, sont plus nombreuses dans la gonade mâle, où elles sont réparties de façon égale dans les deux renflements de chaque haltère ; RICHARD-MERCIER (1972) note la présence de quelques mitoses à ce niveau, contrairement au cas de l'ovaire.

L'extrémité des deux follicules testiculaires est occupée par une masse de tissu mésodermique que RICHARD-MERCIER (1972) définit comme le "tissu apical". Parallèlement, chez l'embryon femelle, les cellules mésodermiques se groupent pour former les filaments terminaux des ovarioles.

3.2.2 Larves issues d'oeufs irradiés :

Dans tous les cas examinés, deux gonades bien distinctes existent. Elles sont toujours situées à leur emplacement anatomique normal, mais, le plus souvent, les gonies primordiales manquent totalement ou sont peu nombreuses. Les gonades, dépourvues de gonies, ont une taille nettement inférieure à celle des gonades témoins, mais conservent sans équivoque leur forme : ovoïde ou haltère. La gaine de cellules adipeuses est à l'image de celle des témoins.

3.3 Doses nécessaires pour obtenir des gonades agamétiques : (Planches 2 et 3)

3.3.1 Irradiation du cytoplasme polaire postérieur avant la pénétration des noyaux de segmentation : les résultats sont résumés dans le tableau n° 3.1.

Tableau n° 3.1.

Doses (roentgens)	Nombres d'oeufs irradiés	Nombre d'éclosions	Pourcentage de larves du type a	b	c
$2,5.10^5$	64	60	100	0	0
10^6	74	52	74	18,5	7,5
6.10^6	112	77	68	9	23
10^7	160	66	22	10	59

a- Larves dont les gonades sont normales
b- Larves dont les gonades sont pourvues d'un nombre faible de gonies
c- Larves dont les gonades sont totalement dépourvues de gonie.

3.3.2 Irradiation des noyaux ou des cellules du pôle postérieur de l'oeuf : les résultats sont résumés dans le tableau n° 3.2.

Tableau n° 3.2.

Stades irradiés	Doses (roentgens)	Pourcentage de larves du type a	b	c
Préblastoderme (24 heures à 16°C) stade à 1000 noyaux	10^3	20	40	40
	3.10^3	0	30	70
	10^4	8,3	0	91,7
	3.10^4	0	0	100
Blastula âgée (48 h à 16°C)	10^4	0	40	60

a - Larves dont les gonades sont normales.

b - Larves dont les gonades sont pourvues d'un faible nombre de gonies.

c - Larves dont les gonades sont totalement dépourvues de gonie.

3.3.3 Conclusion :

Dans le cas où l'irradiation ne concerne qu'une structure purement cytoplasmique il est nécessaire d'utiliser des doses comprises entre 10^6r et 10^7r pour obtenir des gonades agamétiques. Au contraire, dans les 2 cas où les noyaux sont irradiés, le même résultat est obtenu après des doses comprises entre 10^3 et 10^4r.

La radiorésistance du cytoplasme est donc 10^3 à 10^4 fois plus élevée que celle de l'ensemble de la cellule.

3.4 Conclusions générales :

La discussion de ces résultats nous amène à formuler cinq conclusions importantes.

3.4.1 Absence d'effet indirect d'une irradiation localisée : l'embryogenèse en effet a pu se dérouler après application de doses supérieures à 10^6 r.

L'irradiation, même très intense d'une zone cytoplasmique, ne semble pas léser les noyaux situés en dehors de la zone irradiée. DURYEE (1949), ELLINGER (1957) et KUZIN et al (1966) concluent à l'existence de cet effet indirect. Par contre, selon ZIRKLE et BLOOM (1953), ROGERS et VON BORSTEL (1957 et 1958) et OKADA (1970) la preuve d'un effet indirect n'est pas apportée par ces expériences et l'existence de produits toxiques agissant à distance (DURYEE 1949) n'a jamais été démontrée.

Pour notre part, l'existence d'un effet indirect de ce type est liée à des conditions techniques plus ou moins défectueuses :

- irradiation non contrôlée de noyaux trop proches de la zone cytoplasmique considérée : problème de la zone de pénombre.
- atteinte secondaire de certains noyaux par les électrons ou les produits de radiolyse de l'eau (phénomènes très limités dans l'espace).
- irradiation indirecte due à des réflexions du rayonnement incident. Ce phénomène est très important : un dispositif expérimental utilisé dans nos premières expériences a révélé une fuite de ce type s'élevant à 5 millièmes de la dose incidente. Cette irradiation parasite, tolérable au niveau d'une dose de 10^3 r, ne l'est absolument plus pour les doses très élevées (10^6 r).

Notre travail montre l'absence d'effet indirect d'une irradiation cytoplasmique au niveau des noyaux, à condition que la localisation soit effectuée avec soin.

3.4.2 Destruction spécifique impossible d'une information cytoplasmique : l'obtention de gonades agamétiques est due à la destruction totale de la région polaire postérieure, et non à la destruction sélective du déterminant germinal. Après irradiation du cytoplasme polaire postérieur par une dose de 10^7 r la zone irradiée dégénère. Le

blastoderme se forme, non pas au pôle de l'oeuf, mais à la limite de la zone non irradiée. Des coupes effectuées quelques heures après l'irradiation montrent que la zone cytoplasmique irradiée s'isole rapidement : les noyaux de segmentation intravitelline n'y pénètrent pas. Ce phénomène est semblable à celui qui a été décrit, avec beaucoup de précisions, par JURA (1961) à la suite de la brûlure par thermocautère du pôle postérieur de l'oeuf de Melasoma. Nous avons montré (1967) que la proportion des larves dont les gonades sont dépourvues de gonies est identique à celle des oeufs dont le blastoderme n'incorpore pas l'ooplasme.

3.4.3 Absence d'un centre organisateur postérieur : l'isolement de la région polaire postérieure de l'oeuf dès les premières phases de la segmentation n'empêche pas la poursuite de l'embryogenèse. Nous rejoignons sur ce point les conclusions de HAGET (1953 a). L'existence d'un tel centre, prouvée par les travaux de SEIDEL chez Platycnemis (1929 et 1936) ne peut pas être généralisée dans la classe des Insectes.

3.4.4 Induction du mésoderme : toutes les larves examinées étaient pourvues de gonades différenciées malgré l'absence fréquente des gonies (tableaux 1 et 2). La partie mésodermique de la gonade peut donc s'édifier, et se différencier selon le sexe, indépendamment de l'absence ou de la présence des cellules germinales initiales. La nécessité d'une induction du mésoderme par les cellules germinales n'existe pas chez Leptinotarsa.

Ce fait, établi depuis longtemps chez les Coléoptères (HEGNER 1909, 1911 et 1914 - HAGET 1953 a) et chez les Diptères (GEIGY 1931 - ABOIM 1945) reste toujours controversé par POULSON et WATERHOUSE (1960) et ANDERSON (1966 et 1972). Ces auteurs, après destruction des cellules polaires, constatent l'absence de gonades et l'attribuent à une nécessaire induction du mésoderme. Une explication tout à fait différente peut être avancée : les expérimentateurs auraient détruit , outre les cellules polaires, les cellules blastodermiques qui fournissent normalement le mésoderme de la région moyenne abdominale, origine de la partie somatique des gonades selon les observations de HAGET (1953 a et b), ALLEAUME et HAGET (1961) et RICHARD-MERCIER (1972). Cette explication, tenue pour peu probable par POULSON et WATERHOUSE (1960) n'est pas envisagée par ANDERSON (1966).

L'existence de gonades agamétiques, démontrée dans de nombreux travaux récents - chez Leptinotarsa (HAGET 1953 a, BLUZAT 1967, 1968), chez Melasoma (JURA, 1961), chez Calliphora (ALLEAUME et HAGET, 1961), chez Drosophila (HAHAWAY et SELMAN, 1961; JURA, 1965) et chez Culex (IDRIS, 1960 et OELHAFEN, 1961) - justifie amplement le bien fondé des conclusions des auteurs anciens (HEGNER, GEIGY et ABOIM).

3.4.5 Différence entre les radiosensibilités nucléaire et cytoplasmique : de nombreux travaux ont mis en évidence cette différence, mais le résultat varie en fonction des techniques utilisées. Nous n'avons retenu que les résultats les plus significatifs en fonction des diverses méthodologies :

Irradiation localisée, rayons X :

oeufs de Drosophila, cytoplasme 66 fois plus résistant que le noyau (ULRICH, 1954), puis 200 fois plus résistant (ULRICH, 1955, 1958 , ULRICH et WÜRGLER, 1964).

Irradiation localisée, électrons à faible pouvoir de pénétration : culture de cellules de fibroblastes de souris, cytoplasme 100 fois plus résistant que le noyau (COLE, HUMPHREY et DEWEY, 1963).

Irradiation par des particules de transfert d'énergie linéaire élevé (particules α du Polonium :

- algue verte (Zygnema) : cytoplasme 700 fois plus résistant (PETROVA, 1942).
- oeufs de Habrobracon :

effet léthal) 1 particules α pour le noyau,
obtenu par) 16.10^6 particule α pour le cytoplasme (ROGERS et VON BORSTEL,) 1957-1958).

Développement par androgenèse :

Habrobracon (WHITING, 1950-1955) : cytoplasme 20 fois plus résistant ; aucun effet au niveau cytoplasmique en dessous de 12.10^3 r.

Bombyx (STRUNNIKOV, 1960) : 54 KR sans effet au niveau du cytoplasme.

La différence entre les radiosensibilités nucléaire et cytoplasmique est donc toujours très élevée : un facteur 10^2 à 10^3 peut être considéré comme la règle générale. Nos résultats soulignent l'importance de cet écart et peuvent être schématisés ainsi :

) d'une structure contenant des noyaux : 10^3 à 10^4r.
destruction)
) d'une structure uniquement cytoplasmique : 10^6 à 10^7r.

Ce résultat est très important pour la suite de notre travail car il nous permet d'affirmer que les conséquences d'une irradiation totale de l'oeuf sont dues uniquement à des lésions au niveau des noyaux quand les doses utilisées se situent entre 10^2 et 10^4 rads.

CHAPITRE IV

CHAPITRE IV

EVOLUTION DE LA RADIOSENSIBILITE AU COURS DE L'EMBRYOGENESE

EVOLUTION DE LA RADIOSENSIBILITE AU COURS DE L'EMBRYOGENESE.

Pour mesurer la radiosensibilité des divers stades embryonnaires, nous avons retenu le critère le plus simple, c'est-à-dire :

le rapport $\frac{\text{nombre d'éclosions}}{\text{nombre d'oeufs irradiés}}$.

4.1 Courbes effet-dose déterminées à divers stades.

4.1.1 Tableau

Pour chaque stade embryonnaire considéré, les pourcentages d'éclosions sont rassemblés dans un tableau, en fonction des doses d'irradiation utilisées. Nous présentons ci-dessous, à titre d'exemple, l'un d'entre eux : irradiations intervenues après un jour de développement à 25°C ; tableau n° 4-1, ci-dessous.

L'ensemble des tableaux des résultats obtenus après irradiation des oeufs à 9 autres stades embryonnaires est en annexe.(Tableaux : Annexe 1 à 9)

4.1.2 Courbe sigmoïdale.

L'étude en coordonnées arithmétiques de l'effet (pourcentage d'éclosions) en fonction de la dose conduit à tracer une courbe de type sigmoïdal , comparable à celle obtenue classiquement dans l'étude de l'effet d'une drogue sur la survie d'une espèce animale. La courbe effet-dose, présentée ci-dessous (fig. 4-1) ,correspond aux résultats du tableau et permet de déterminer deux constantes :

- le seuil en dessous duquel l'effet est négligeable,
- la dose léthale pour 50% des oeufs irradiés ou DL 50.

Tableau 4-1: Irradiation après 1 jour de développement à 25°C.

Dose en rads	Nombre de pontes	Nombre d' oeufs	Nombre d' éclosions	Pourcentage d'éclosion *
$3.\ 10^2$	9	324	312	96 (93 - 98)
$4.\ 10^2$	5	113	99	88 (80 - 93)
$5.\ 10^2$	17	463	364	79 (75 - 82)
$6.\ 10^2$	13	449	256	57 (53 - 61)
$7.\ 10^2$	14	388	134	35 (31 - 39)
$8.\ 10^2$	20	637	143	22 (19 - 26)
10^3	12	391	48	12 (10 - 15)
$1,\ 1.\ 10^3$	7	245	13	5 (3 - 9)
$1,\ 2.\ 10^3$	9	418	7	2 (0, 7 - 3, 5)

* Intervalle de confiance du pourcentage au risque 5 %.

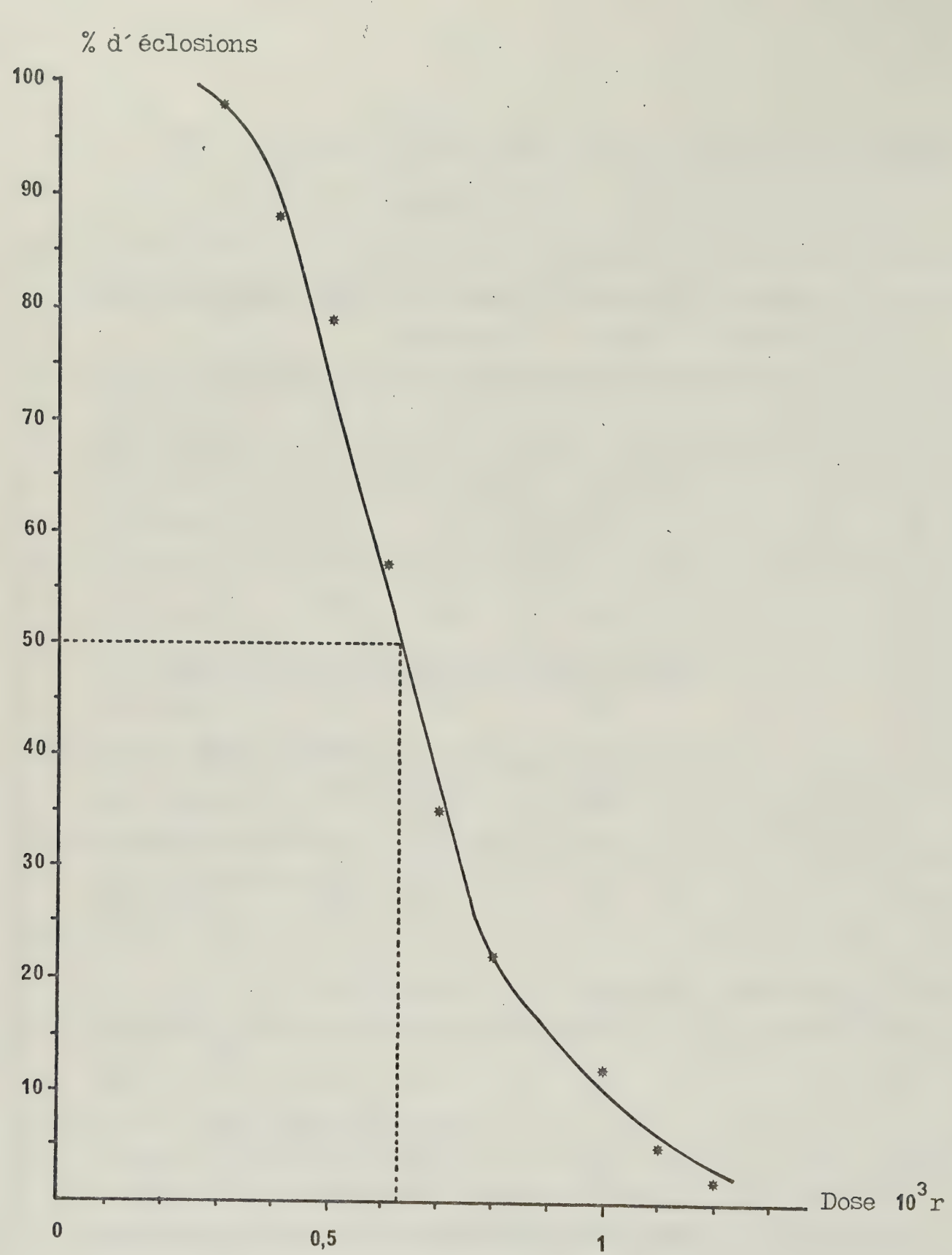


Fig.4_1_ Courbe-effet dose. Stade irradié: 1 jour à 25°.

Ces déterminations graphiques n'ont pas une très grande précision. D'autre part le graphique en coordonnées arithmétiques ne permet pas de différencier avec certitude une fonction exponentielle d'une fonction sigmoïdale. Nous avons donc utilisé la transformation classique des courbes indiquant le pourcentage de survie en fonction de la dose : la transformation en coordonnées semi-logarithmiques.

4.1.3 Etude en coordonnées semi-logarithmiques.

Suivant le stade irradié, le logarithme de la survie (c'est-à-dire ici l'éclosion) décroît en fonction de la dose selon deux lois.

4.1.3.1 La première, une loi exponentielle, est représentée par une droite passant par l'origine de l'axe des ordonnées : 100% d'éclosions pour une dose nulle.

Cette courbe, dite "courbe à un coup"("one hit curve" des auteurs anglo-saxons) est interprétée de la façon suivante dans la théorie de la cible formulée par LEA (1956) : l'effet léthal est entraîné statistiquement par un coup par cible (sans préjuger de la nature de la cible). Dans ces conditions, la distribution statistique d'un coup par cible entraîne la mort de 63% des individus irradiés qui ont reçu un ou plusieurs coups efficaces et la survie de 37% d'entre eux qui, irradiés, n'ont reçu aucun coup efficace. La valeur de cette dose, appelée D_{37}, caractérise la radiosensibilité d'une population irradiée : plus la D_{37} est une dose faible, plus la radiosensibilité des individus irradiés est élevée.

Nous n'avons rencontré ce type de droite que dans le cas d'embryons irradiés au cours des trois premiers cycles de segmentation intravitelline : figure 4-2 ci-dessous.
Ce graphique permet de définir avec précision la D_{37} et montre clairement l'absence d'un seuil.

4.1.3.2 La deuxième est une loi sigmoïdale,pouvant être assimilée à une loi exponentielle mais seulement au-delà d'un seuil : les doses les plus faibles se révèlent pratiquement sans effet.

Ce type de courbe, dite "courbe à plusieurs coups" ("multi-hit curve" des auteurs anglo-saxons) est interprété de la façon suivante dans la théorie de la cible de Lea : la mort de chaque organisme est entraînée :

1) soit par plusieurs coups efficaces dans une cible unique,

2) soit par un coup efficace dans chacune des cibles existantes.

OKADA (1970) précise que des calculs théoriques montrent que seule, la seconde hypothèse, peut en réalité être retenue.

Toutes les courbes effet-dose établies dans nos expériences sont de ce type, sauf lorsque l'irradiation est intervenue au tout début de la segmentation (cf. 4.1.3.1). Ces courbes sigmoïdales sont définies par certains paramètres qui permettent de les comparer :

1) entre elles,

2) à une courbe exponentielle.

Deux exemples montrant dans un cas un seuil très faible, dans l'autre un seuil élevé, sont figurés ci-dessous (fig. 4-3 et 4-4) ; les autres courbes sont placées en annexe, en face du tableau correspondant.

Ce graphique permet d'évaluer le nombre d'extrapolation, n, qui est défini comme l'intersection de l'axe logarithmique (survie) et de la prolongation de la partie linéaire de la courbe (ALPER et al. 1960). Le "seuil probable" Dq est défini par l'intersection d'un axe d'abscisse passant par l'ordonnée 100% de survie et la prolongation de la partie linéaire de la courbe (ALPER et al. 1962).

Une translation de la portion linéaire de la courbe, passant par l'ordonnée 100% de survie, permet de définir une dose léthale pour 63% des individus, abstraction faite du seuil : c'est par définition (LEA 1956) la Do, directement comparable à la D_{37} d'une fonction exponentielle ; pour une courbe sigmoïdale, on obtient en effet la relation suivante : $D_{37} = Do + Dq$. La valeur de la Do d'une courbe sigmoïdale caractérise donc la radiosensibilité d'une population au-delà de la dose seuil.

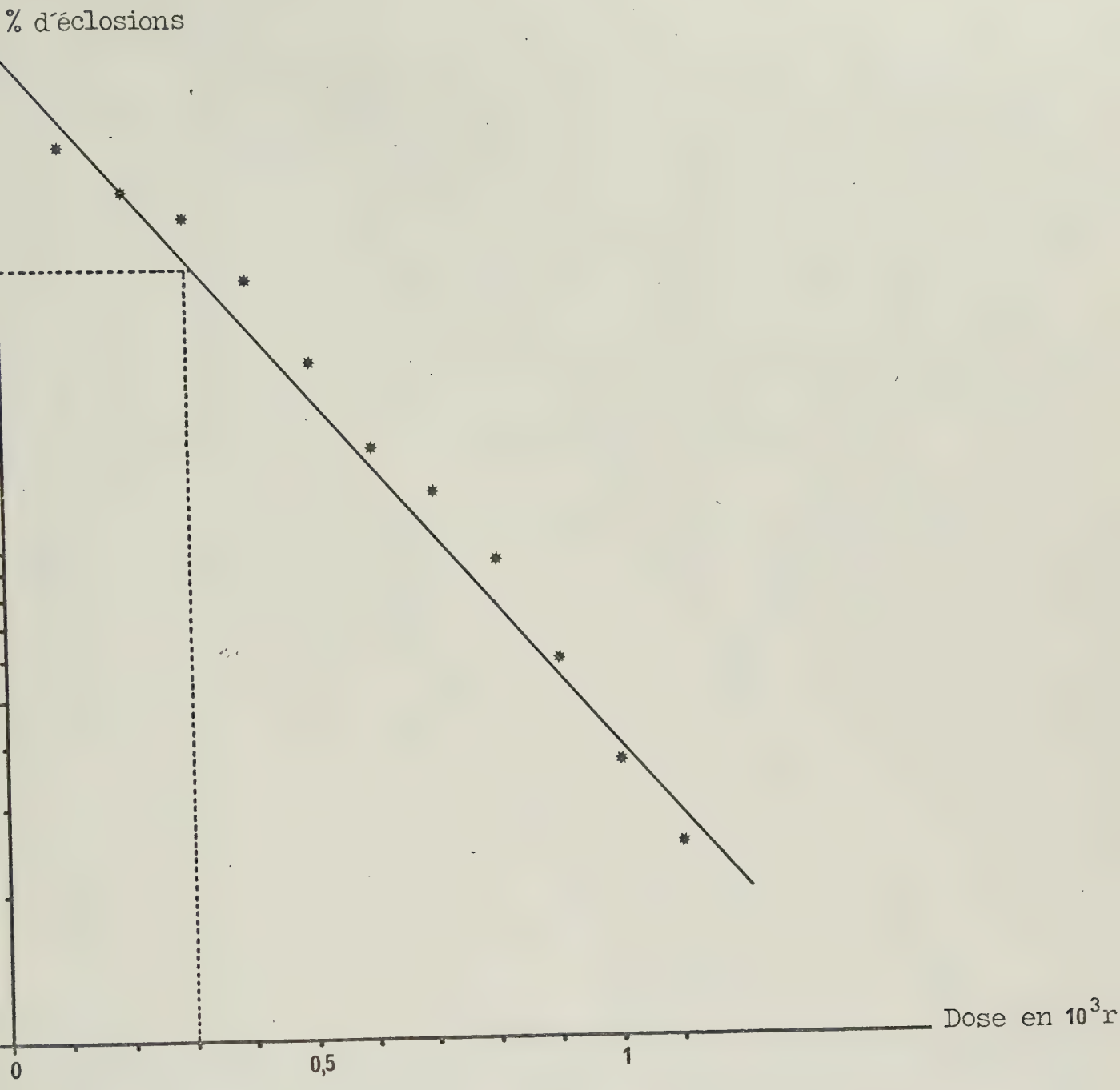


Fig.4_2_ Courbe effet_dose. Stade irradié: début de la segmentation.

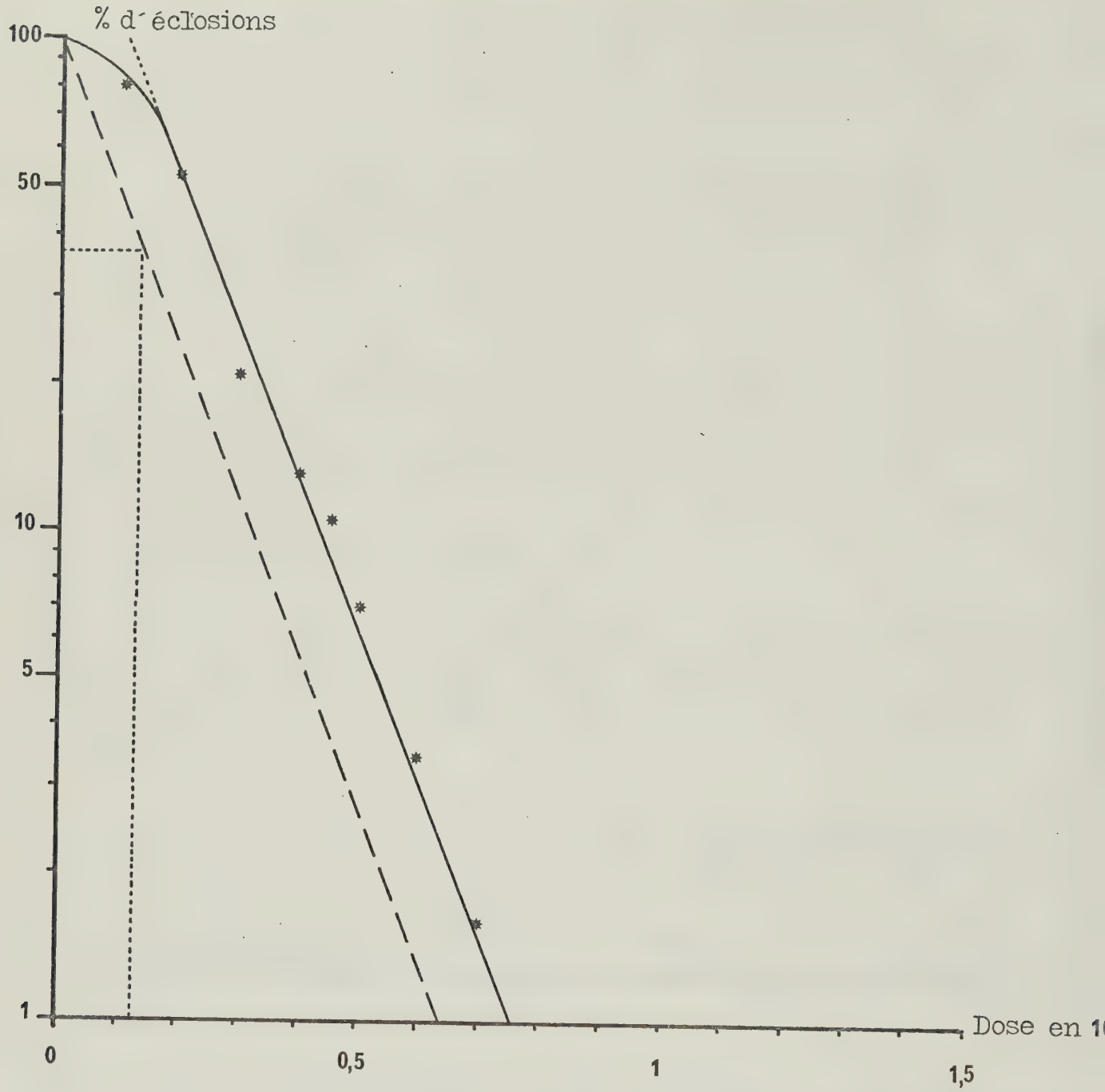


Fig.4_3_ Courbe effet_dose . Stade irradié : 12 h à 25°.

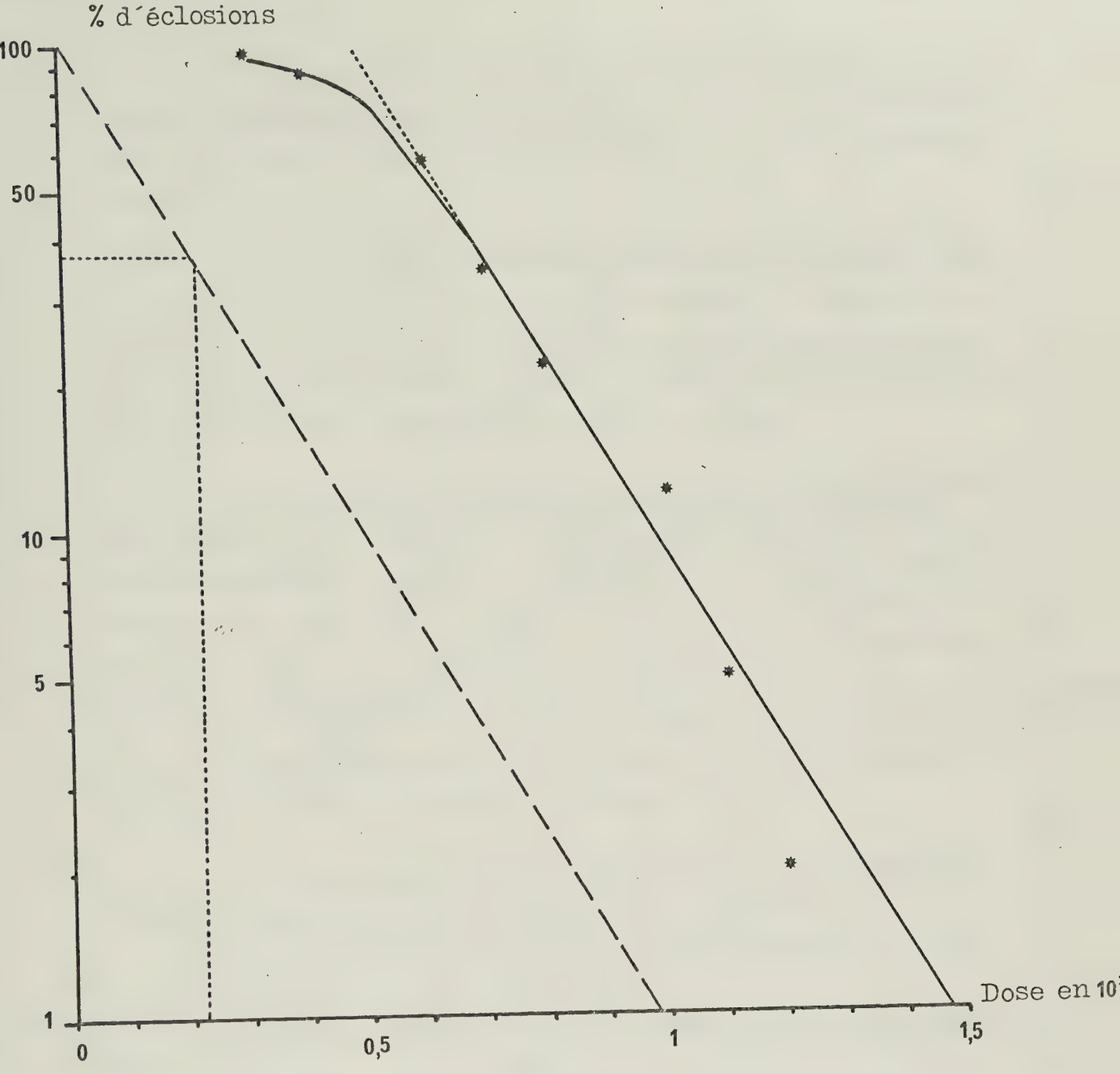


Fig.4_4_ Courbe effet_dose - Stade irradié: 1jour à 25°.

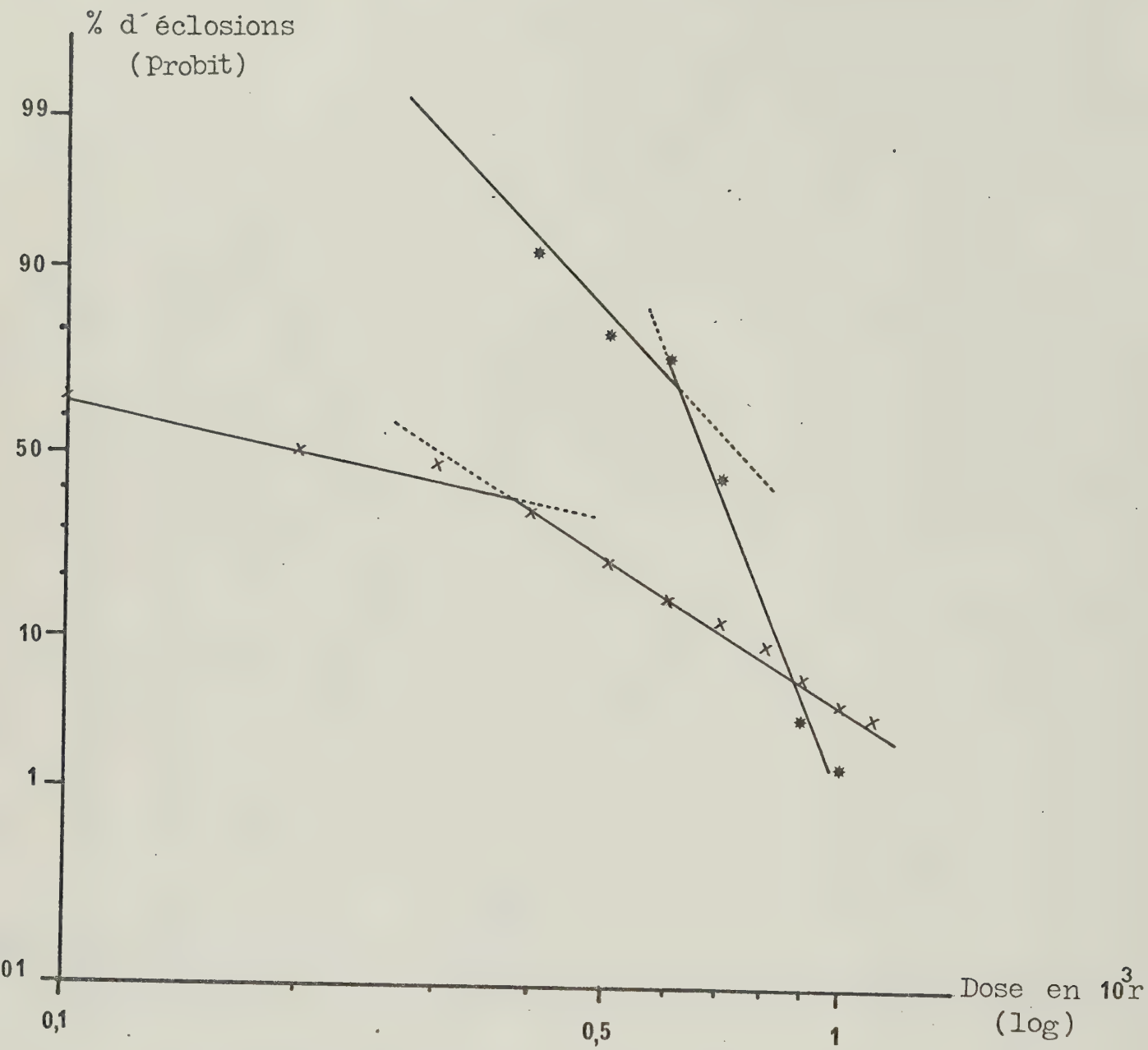


Fig. 4_5_ Courbe effet_dose .

Stade irradié : -x- début de la segmentation

-*- 1,5 jour à 25°

Dans la théorie de la cible, le nombre d'extrapolation, n, indique le nombre de cibles qu'il faut atteindre pour obtenir un effet léthal. Le "seuil probable" Dq est alors la dose qu'il faut utiliser à cet effet.

Dans les interprétations plus modernes qui tiennent compte à la fois des lésions et des phénomènes de réparation, le nombre d'extrapolation, n, donne une idée de l'importance des phénomènes de réparation et Dq indique la dose au-delà de laquelle les lésions ne sont plus réparées efficacement (ELKIN et SUTTON, 1959, ALPER et al, 1962).

4.1.4 Etude de la distribution des résultats "effet-dose".

Afin de vérifier que les résultats obtenus après irradiation aux divers stades embryonnaires considérés se répartissent selon des distributions normales, nous avons porté ceux-ci sur un graphique dont l'ordonnée est une échelle probit ; une distribution normale est alors représentée par une droite : droite de HENRY. (SCHWARTZ, 1963).
Pour souligner une éventuelle distribution anormale au niveau des faibles doses, une échelle logarithmique est utilisée en abscisse. Deux exemples sont représentés dans le graphique ci-dessous : Fig. 4-5.

Les résultats correspondant à chaque stade embryonnaire irradié se traduisent dans ces conditions par deux droites :

- la première correspond à l'effet de seuil et montre que l'effet des faibles doses n'est pas nul mais faible.
- la deuxième correspond à la partie linéaire des courbes sigmoïdales.

Il faut noter que, même après une irradiation très précoce (avant le stade 8 noyaux de segmentation), ce graphique montre deux catégories d'oeufs et non une seule comme nous l'indiquions au paragraphe 4.1.3.1 . La conclusion émise alors n'est pas satisfaisante et sera discutée avec précision dans les conclusions générales (paragraphe 10.2). Nous retiendrons simplement ici que deux catégories d'oeufs existent au tout début de l'embryogenèse :

- des oeufs extrêmement radiosensibles : une dose de 10^2 rads se révèle être une dose léthale pour 35% d'entre eux. Dans ce cas, il n'y a pas d'effet de seuil.

- des oeufs beaucoup plus radiorésistants : une dose de 10^3 rads, donc 10 fois plus élevée, n'est pas léthale pour 4% d'entre eux. Ici au contraire un effet de seuil existe indiscutablement.

4.2. Radiosensibilité mesurée par la DL50 (BLUZAT, 1971).

4.2.1 Tableau

Les résultats sont résumés dans le tableau 4-2 ci-dessous.

4.2.2 Représentation graphique.

Pour la représentation graphique de l'évolution de la DL 50 en fonction du stade embryonnaire irradié, nous avons jugé bon d'utiliser une échelle lograrithmique vu l'importance de la variation des valeurs de la DL 50 (de 2.10^2 rads à plus de 10^4 rads) : fig. 4-6.

4.2.3 Conclusions.

Ce graphique montre que l'embryogenèse peut être divisée en 2 parties.

4.2.3.1 La première partie s'étend de la fécondation au début de l'organogenèse (2 j 1/2 à 25°C). Pendant cette période, la radiosensibilité varie de façon très complexe:

- la radiosensibilité augmente au cours de la phase de segmentation intravitelline telle qu'elle a été définie par MAISONHAUTE (1971), c'est-à-dire jusqu'au stade 1000 noyaux ;
- après l'arrivée des noyaux de segmentation dans le périplasme, la radiosensibilité diminue jusqu'au début de la gastrulation (24 h à 25°C). Elle se maintient ensuite à un niveau à peu près constant jusqu'aux premiers stades de l'organogenèse.

4.2.3.2 La deuxième partie de l'embryogenèse s'étend du début de l'organogenèse jusqu'à l'éclosion : pendant cette période la radiorésistance augmente selon une loi exponentielle. A la fin de l'embryogenèse, l'éclosion des oeufs perd sa valeur, en tant que critère de mesure de l'effet d'une irradiation, car elle se produit quelle que soit la dose utilisée (20 KR par exemple). Ce fait souligne une fois de plus qu'une irradiation, même massive, ne se traduit pas obligatoirement par un arrêt immédiat ou très rapide des processus embryonnaires en cours.

Tableau n°4-2:Evolution de la DL 50 au cours de l'embryogenèse.

Stades embryonnaires irradiés, développement à 25°C.	DL 50 (en rads)
1 ou 2 noyaux de segmentation	$3,5.10^2$
2, 4 ou 8 noyaux de segmentation	$2,5.10^2$
12 heures	2.10^2
1 jour	6.10^2
1 jour ½	$6,6.10^2$
2 jours	6.10^2
2 jours ½	$7,5.10^2$
3 jours	$2,1.10^3$
3 jours ½	7.10^3
4 jours	$8,5.10^3$
4 jours ½	$1,5.10^4$

Fig.4_6_ Evolution de la DL 50 au cours de l'embryogenèse.

4.3 Radiosensibilité mesurée par les paramètres des courbes de survie en coordonnées semi-logarithmiques :

Les valeurs des paramètres indiqués dans le paragraphe 4.1.3, soit D_{37} (fonction exponentielle) ou Do, Dq et n (fonction sigmoïdale) sont rassemblées dans le tableau 4-3 ci-dessous .

4.3.1 D_{37} et Do

Les variations de cet indice de radiosensibilité, indépendant de la notion de dose-seuil, sont schématisées dans le graphique ci-dessous : fig. 4-7. Ce graphique confirme les conclusions obtenues par l'étude de la DL 50 et montre en plus, avec certitude, qu'il existe une deuxième phase de radiosensibilité maximale, située après la gastrulation.

4.3.2 Dose-seuil (Dq).

Au cours des premières divisions de segmentation, un seuil existe pour certains oeufs (Dq : 150 r) mais n'existe pas pour d'autres (les plus radiosensibles). A tous les autres stades embryonnaires, il existe une dose-seuil au-dessous de laquelle une irradiation se révèle pratiquement sans effet sur les possibilités d'éclosion. La dose-seuil augmente au cours de l'embryogenèse, mais son évolution montre qu'il existe deux phases radiosensibles, résultat en plein accord avec la conclusion fournie par l'étude de la Do.

4.3.3 Nombre d'extrapolation (n)

Le nombre d'extrapolation augmente au fur et à mesure du déroulement de l'embryogenèse : soit le nombre de cibles qu'il faut détruire pour obtenir un effet léthal augmente, soit les capacités de réparation cellulaire sont de plus en plus importantes.

Il faut noter cependant un fait curieux : le nombre d'extrapolation n'augmente pratiquement pas au cours de la phase de segmentation nucléaire intravitelline alors que la radiosensibilité du germe s'accroît. Le nombre de cibles ne correspond donc absolument pas au nombre de noyaux présents dans l'oeuf : un effet léthal est obtenu par un coup, ou par 2 coups au maximum, alors qu'il y a 512 noyaux à la fin de cette phase. Ce fait entraîne une conclusion importante du point de vue embryologique : il ne semble pas possible de pallier la destruction d'un noyau de segmentation.

4.4 Conclusions.

S'il est vrai que, d'une façon générale, la radiosensibilité diminue au cours de l'embryogenèse, nos expériences montrent qu'il faut diviser celle-ci en périodes peu radiosensibles et en périodes très radiosensibles.

4.4.1 Deux périodes très radiosensibles.

Première période : la radiosensibilité embryonnaire est maximale aux stades 256 - 512 noyaux de segmentation, c'est-à-dire à la fin de la segmentation nucléaire intravitelline (9 heures à 25°C).

Deuxième période : située après 2 jours de développement à 25°C, elle est postérieure aux phénomènes de gastrulation : la bandelette embryonnaire est, à ce stade, segmentée et pourvue d'ébauches d'appendices.

4.4.2 Trois périodes peu radiosensibles.

Première période : les premiers stades de segmentation nucléaire intravitelline constituent une période peu radiosensible ; la radiosensibilité s'accroît ensuite de façon importante au cours de la segmentation intravitelline.

Deuxième période : la radiosensibilité décroît au cours de la segmentation superficielle ; la blastule âgée et le début de la gastrulation sont moins radiosensibles que les stades précédents ou ultérieurs de l'embryogenèse.

Troisième période : la radiorésistance s'accroît selon une loi exponentielle au cours de la seconde moitié de l'embryogenèse. Nous n'avons mis en évidence aucun regain de radiosensibilité au cours de cette période, contrairement au cas d'*Acheta domesticus* (BLUZAT, 1964).

4.4.3 Nécessité d'une étude plus précise.

Il nous a paru intéressant, après la mise en évidence de périodes peu radiosensibles d'une part et très radiosensibles d'autre part, de chercher à lier avec précision la nature des évènements embryonnaires qui s'y déroulaient et les modalités de l'échec du développement.

Tableau n°4-3: Evolution de la D_{37} ou D_0 , de la Dq et de n au cours de l'embryogenèse.

Stades embryonnaires irradiés : développement à 25°C.	D_{37} ou Do en rads	Dose-seuil Dq en rads	Nombre d'extrapolation n
1 à 4 heures	300	0 et 150	1 et 2
10 à 12 heures	130	100	2
1 jour	220	500	$\simeq$ 10
1 jour ½	100	900	$\simeq$ 500
2 jours	80	550	$>$ 500
2 jours ½	110	750	$>$ 1000
3 jours	600	1750	très grand
3 jours ½	800	6000	très grand

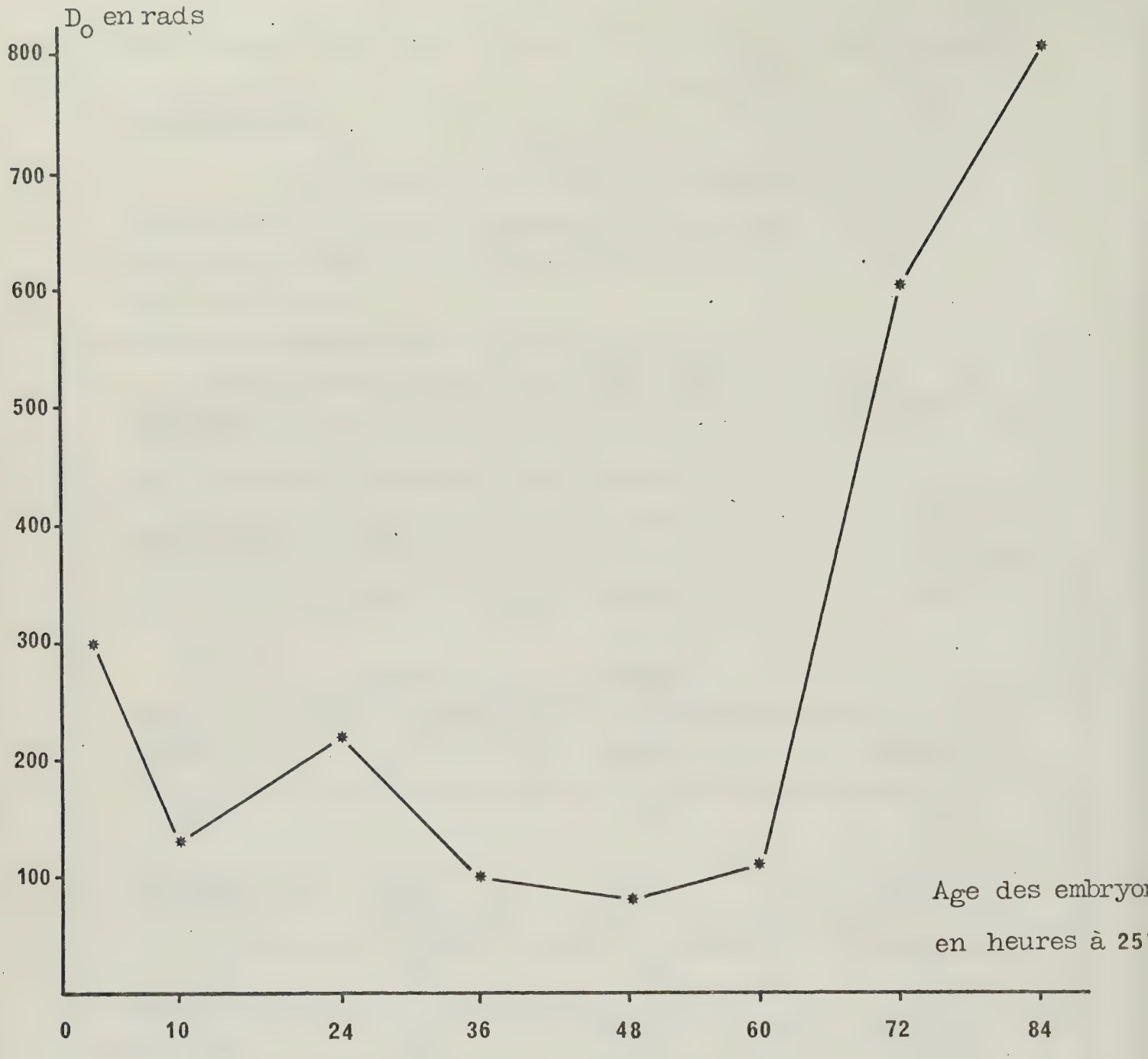


Fig.4_7_ Evolution de la D_o au cours de l'embryogenèse.

CHAPITRE V

ETUDE DE LA RADIOSENSIBILITE AU COURS DE LA SEGMENTATION : PREMIERE PERIODE DE RADIOSENSIBILITE MAXIMALE.

Nous avons repris l'étude de cette période à l'aide de deux méthodes complémentaires : l'étude des variations de la radiosensibilité en fonction du nombre de noyaux et celle des stades où se produit un blocage de l'embryogenèse.

5.1 Variations de la radiosensibilité.

5.1.1 Chronologie précise des variations de la radiosensibilité au cours de la segmentation :

5.1.1.1 Tableaux

A cette fin, nous avons enregistré les pourcentages de "développements avancés" et d'éclosions, après application de 3 doses sublethales, 2.10^2 r, 4.10^2r et 6.10^2r, à des stades très précis de la segmentation (6 à 11 stades suivant les doses). Le terme "développements avancés" recouvre l'ensemble des oeufs irradiés où l'embryogenèse s'est poursuivie au delà du stade 3 jours à 25°C. Les résultats sont rassemblés dans les trois tableaux ci-dessous : l'intervalle de confiance de chaque pourcentage est placé entre parenthèses (table de l'intervalle de confiance d'un pourcentage au risque 5% de SCHWARTZ - 1963) : tableaux n° 5-1, 5-2, et 5-3.

5.1.1.2 Représentation graphique.

Pour chacune des trois doses utilisées, les variations observées en

fonction du stade irradié sont représentées en coordonnées semi-logarithmiques (logarithme de l'effet en fonction du stade irradié) : fig. 5-1 .

5.1.1.3 Conclusions.

Ce graphique met en évidence 3 faits :

- la radiosensibilité augmente au cours de la segmentation nucléaire intravitelline,
- la radiosensibilité diminue au contraire au cours de la segmentation superficielle,
- le stade le plus radiosensible est le stade 512 noyaux (21 h à 17,5°C). A ce stade, les noyaux sont situés près de la périphérie de l'oeuf mais ne sont pas encore parvenus dans le périplasme.

5.1.2 Augmentation de la radiosensibilité au début de la segmentation.

Ce phénomène, établi dans le paragraphe précédent, est d'une très grande importance car les embryologistes considèrent en général, qu'au début de la segmentation, les noyaux embryonnaires peuvent pallier la destruction de l'un d'entre eux. Si cette hypothèse était valable, la radiosensibilité diminuerait au cours du déroulement de la segmentation. Nos expériences montrent le phénomène inverse ; pour bien souligner que ce résultat est indépendant de la dose utilisée, nous avons complété les résultats précédents par l'irradiation des 8 premiers cycles mitotiques par deux doses plus élevées (7.10^2 et 10^3 rads).

5.1.2.1 Tableau.

Les résultats sont rassemblés dans le tableau n° 5-4.

5.1.2.2 Représentation graphique.

Ces résultats montrent qu'indépendemment de la dose utilisée, la radiosensibilité augmente régulièrement au cours de la segmentation nucléaire intravitelline. La représentation graphique des résultats obtenus après irradiation par une dose de 7.10^2r précise la liaison qui existe entre la radiosensibilité et le déroulement de la segmentation : fig. 5-2 .

Tableau n° 5 - 1. Variations de la radiosensibilité embryonnaire au cours de la segmentation (dose : $2\text{-}10^2$ rads).

Stades irradiés = nombre de noyaux de segmentation et heures de développement à 17, 5°C.	Nombre de pontes et nombre d' oeufs irradiés.	Pourcentage de "développements avancés" (intervalle de confiance *).	Pourcentage d' éclosions (intervalle de confiance *).
2 à 8 noyaux (4 à 8 h)	9 - 249	57 (50 - 64)	53 (46 - 60)
64 noyaux (14 à 16 h)	10 - 341	55 (49 - 61)	46 (40 - 52)
256 noyaux (18 à 20 h)	11 - 290	57 (51 - 63)	46 (41 - 53)
≃ 500 noyaux (20 à 22 h)	6 - 159	63 (55 - 71)	34 (26 - 42)
≃ 1000 noyaux (23 à 24 h)	11 - 305	85 (79 - 90)	50 (44 - 56)
≃ 2000 noyaux (27 à 29 h)	5 - 142	97 (92 - 100)	77 (69 -85)

* au risque 5 %.

Tableau n° 5- 2. Variations de la radiosensibilité embryonnaire au cours de la segmentation (dose : 4.10^2 rads).

Stades irradiés = nombre de noyaux de segmentation et heures de développement à 17, 5°C.	Nombre de pontes et nombre d'oeufs irradiés.	Pourcentage de "développements avancés". (intervalle de confiance *).	Pourcentage d'éclosions (intervalle de confiance *).
2 à 8 noyaux (4 à 8 h)	6 - 197	37 (30 - 44)	35 (28 - 42)
64 noyaux (14 à 16 h)	26 - 784	36 (33 - 39)	25 (22 - 28)
256 noyaux (18 à 20 h)	31 - 999	25 (22 - 28)	8 (6 - 10)
≃ 500 noyaux (20 à 22 h)	21 - 582	42 (38 - 46)	12 (10 - 15)
≃ 1000 noyaux (23 à 24 h)	25 - 742	61 (58 - 64)	24 (21 - 27)
≃ 2000 noyaux (27 à 29 h)	18 - 616	88 (85 - 90)	29 (25 - 33)
≃ 8000 noyaux (36 à 40 h)	15 - 466	93 (91 - 95)	72 (68 - 76)
≃ 16000 noyaux (48 à 52 h)	5 - 113	88 (80 - 93)	88 (80 - 93)

* au risque 5 %.

Tableau n° 5 - 3. Variations de la radiosensibilité embryonnaire au cours de la segmentation (dose : 6.10^2 rads).

stades irradiés = nombre de noyaux de segmentation et heures de développement à 17, 5°C.	Nombre de pontes et nombre d'oeufs irradiés	Pourcentage de "développements avancés" (intervalle de confiance *)	Pourcentage d'éclosions (intervalle de confiance *)
1 à 2 noyaux (1 à 2 h à 25°C.)	13 - 443	25 (21 - 29)	18 (15 - 22)
2 à 8 noyaux (4 à 8 h)	14 - 442	19 (16 - 23)	13 (10 - 16)
64 noyaux (14 à 16 h)	18 - 519	14 (11 - 17)	5 (3 - 7)
256 noyaux (18 à 20 h)	7 - 257	7 (4 - 11)	0
≃ 500 noyaux (20 à 22 h)	10 - 348	35 (31 - 39)	0
≃ 1 000 noyaux (23 à 24 h)	16 - 700	59 (56 - 62)	0, 1
≃ 2 000 noyaux (27 à 29 h)	16 - 501	71 (67 - 75)	4 (2 - 6)
≃ 4 000 noyaux (32 à 34 h)	11 - 364	76 (72 - 80)	13 (10 - 16)
≃ 8 000 noyaux (36 à 40 h)	16 - 559	94 (92 - 96)	18 (15 - 22)
≃ 16 000 noyaux (48 à 52 h)	13 - 449	86 (83 - 89)	57 (53 - 61)
gastrula âgée (64 à 68 h)	7 - 233	95 (91 - 98)	71 (61 - 74)

* au risque 5 %.

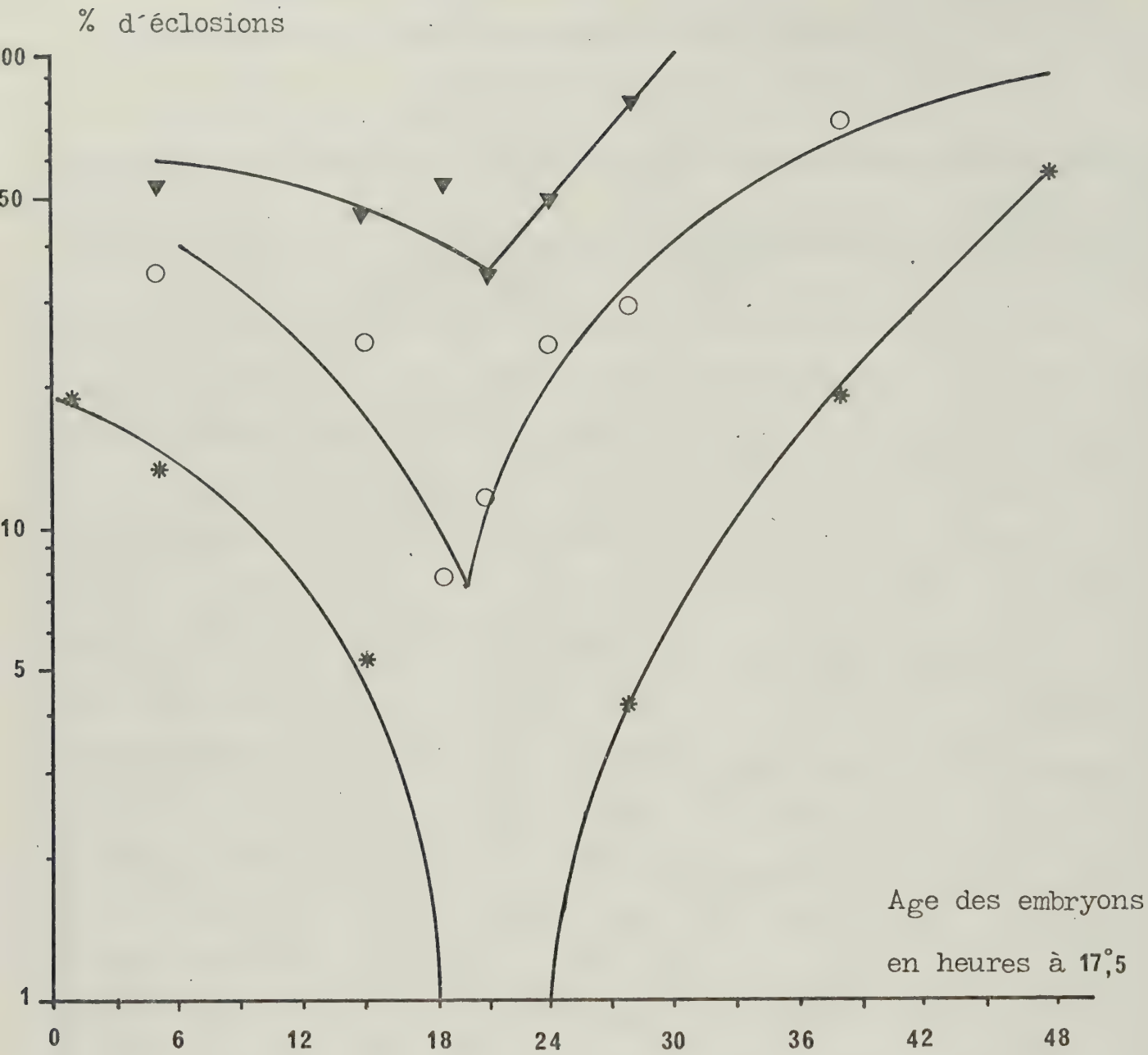


Fig. 5_1_ Première période de radiosensibilité maximale.

Doses : ▼ $0,2 _ 10^3$ r

○ $0,4 _ 10^3$ r

* $0,6 _ 10^3$ r

Tableau n°5 - 4. Augmentation de la radiosensibilité au cours des 8 premiers cycles mitotiques.

stades irradiés = nombre de noyaux de segmentation et heures de développement à 25°C.	Dose (en rads)	Nombre de pontes.	Nombre d'éclosions.	Pourcentage d'éclosions (intervalle de confiance *).
1 à 4 noyaux (1 à 3 h)	7.10^2	7	63	24 (19 - 29)
1 à 8 noyaux (1 ½ à 3 ½ h)		25	212	25 (22 - 28)
4 à 32 noyaux (3 à 5 ½ h)		32	172	14 (12 - 16)
4 à 64 noyaux (3 à 6 h)		8	25	8 (5 - 12)
32 à 256 noyaux (5 ½ à 7 ½ h)		17	38	6 (4 - 8)
64 à 256 noyaux (6 à 8 h)		12	3	< 1 (0 - 3)
2 à 8 noyaux (2 à 4 h)	10^3	6	28	12 (8 - 17)
4 à 32 noyaux (3 à 5 h)		7	13	5 (2 - 9)
32 à 128 noyaux (5 à 7 h)		10	0	0
64 à 256 noyaux (6 à 8 h)		8	0	0

* au risque 5 %.

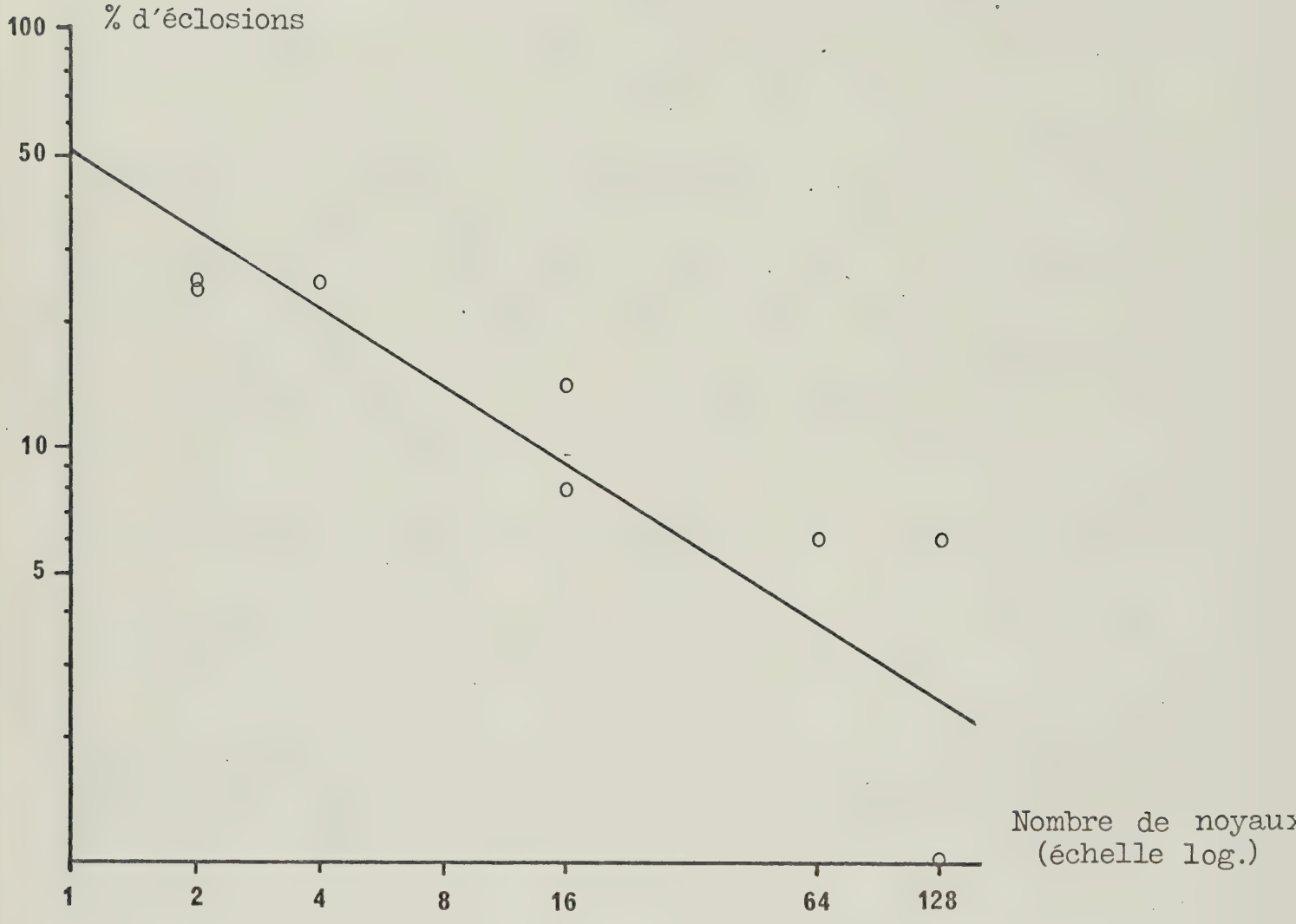


Fig.5_2_ Augmentation de la radiosensibilité au cours de la segmentation nucléaire intravitelline.

Dose: $0,7 . 10^3$r

Le logarithme du pourcentage d'éclosions (Y) (mesure de la radiosensibilité) varie linéairement en fonction du logarithme du nombre de noyaux (X) (déroulement de la segmentation) selon une droite d'équation : $Y = aX + b$, soit $Y = - 0,55X + 1,63$ (1) avec un coefficient de corrélation : $r = - 0,87$.

Cette expérience montre que l'augmentation de la radiosensibilité embryonnaire est liée à l'augmentation du nombre de noyaux intravitellins.

5.1.2.3 Evolution de la D_{37} en fonction du nombre de noyaux.

Afin de généraliser la conclusion établie dans le paragraphe précédent, nous avons représenté graphiquement, en coordonnées logarithmiques, les variations de la D_{37} (ou de la Do) en fonction du nombre de noyaux de segmentation au moment de l'irradiation : fig. 5-3.

Ce graphique montre que le logarithme de la D_{37} (Y) varie linéairement en fonction du logarithme du nombre de noyaux (X) :

$Y = - 0,26X + 2,69$ (2) avec $r = - 0,97$

5.1.2.4 Conclusion.

Nos résultats démontrent qu'au cours de la segmentation intravitelline la radiosensibilité embryonnaire est liée au nombre de noyaux irradiés.

$$D_{37} \alpha^{\star} (\text{nombre de noyaux})^{-a} \quad (3)$$

$\star$ α signifie proportionnel à

Le nombre de noyaux constitue la cible offerte à l'impact du rayonnement ionisant ; or tous les travaux récents indiquent que la véritable cible est constituée par l'ADN (revue dans OKADA 1970). Le nombre de noyaux représente donc une quantité d'ADN et la relation (3) peut s'écrire :

$$D_{37} \alpha (\text{quantité d'ADN})^{-a} \qquad (4)$$

La définition de la D_{37} entraîne qu'une diminution de la D_{37} signifie une augmentation de la radiosensibilité. La relation (4) peut alors s'écrire :

$$\text{Radiosensibilité} \alpha \text{ quantité d'ADN} \qquad (5)$$

Au cours de la phase intravitelline de segmentation, la radiosensibilité embryonnaire croît proportionnellement à la quantité d'ADN.

5.1.3 Diminution de la radiosensibilité au cours de la segmentation superficielle.

Les résultats exposés dans le paragraphe 5.1.1 soulignent le fait suivant : après l'arrivée des noyaux de segmentation dans le périplasme, la radiosensibilité diminue régulièrement jusqu'au début de la gastrulation.

5.1.3.1 Graphique.

Afin de préciser cette conclusion nous représenterons graphiquement, en coordonnées logarithmiques, le pourcentage d'éclosions en fonction du nombre de noyaux après irradiation par 2 doses, 4.10^2 et 6.10^2 rads : figure 5-4.

Ce graphique montre clairement que, pour une dose donnée, le logarithme du pourcentage d'éclosions (Y) varie linéairement en fonction du logarithme du nombre de noyaux (X). Les droites représentées ci-dessus correspondent aux équations :

après 4.10^2 rads $\quad Y = 0,60X - 0,56 \qquad (6)$

avec un coefficient de corrélation : $r = 0,99$

après 6.10^2 rads $\quad Y = 1,73X - 5,65 \qquad (7)$

avec un coefficient de corrélation : $r = 0,93$

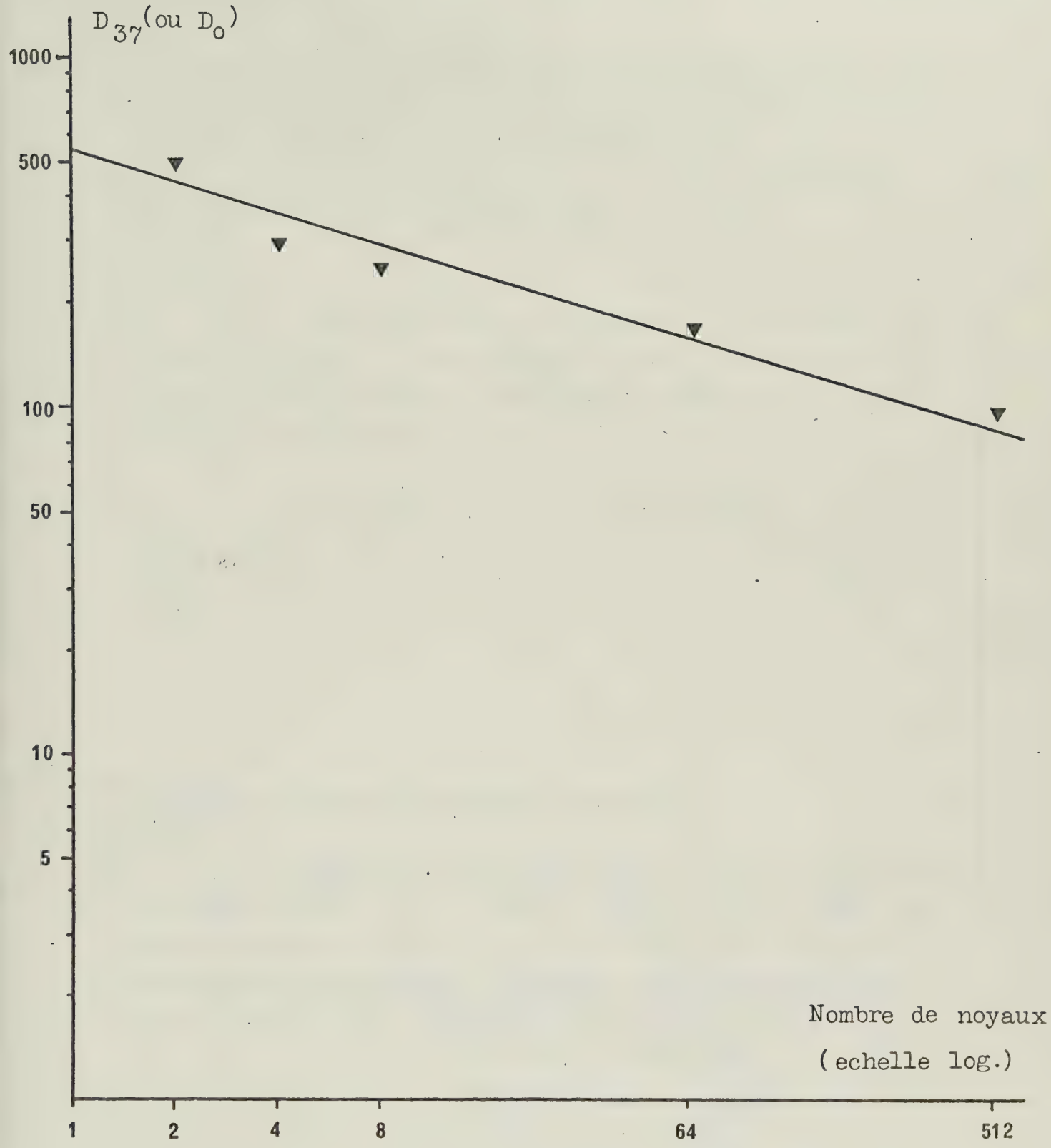


Fig.5_3_ Diminution de la D_{37} (ou D_0) au cours de la segmentation nucléaire intravitelline.

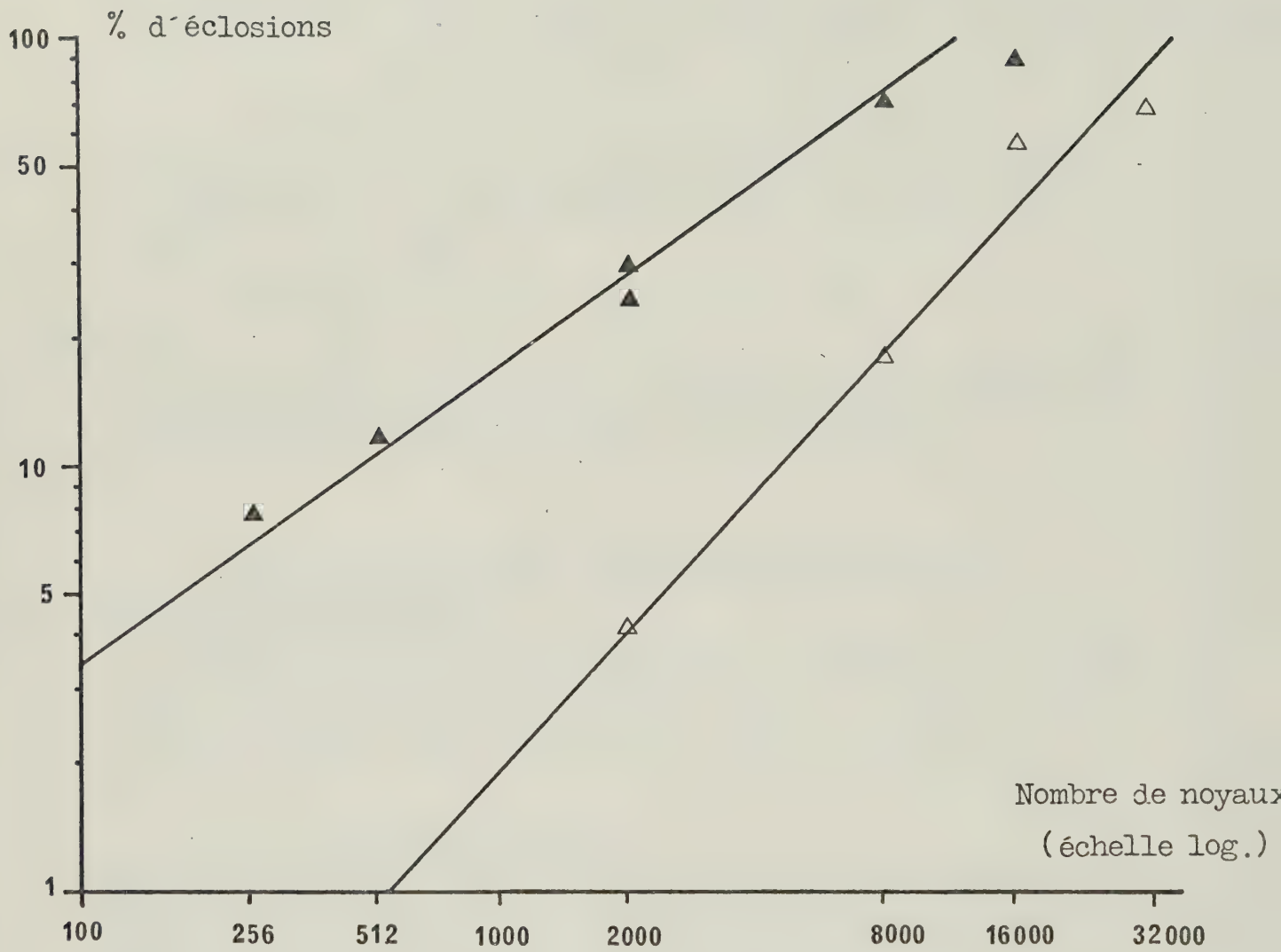


Fig.5_4_ Diminution de la radiosensibilité au cours de la segmentation superficielle.

Doses: ▲ _ 0,4_10^3 r

△ _ 0,6_10^3 r

5.1.3.2 Conclusion.

Les équations (6) et (7) peuvent être généralisées sous une forme comparable à la relation (3) ; pour une dose donnée :

pourcentage d'éclosions α (nombre de noyaux)$^{a'}$ (8)

soit radiosensibilité α $\frac{1}{\text{nombre de noyaux}}$ (9)

Dès l'arrivée des noyaux de segmentation au contact du périplasme de l'oeuf, la radiosensibilité diminue ; sa diminution est proportionnelle à l'augmentation du nombre des noyaux au cours de la phase de segmentation superficielle.

L'augmentation de la radiosensibilité puis sa diminution sont certainement dues au déroulement de phénomènes totalement différents au niveau des noyaux embryonnaires ; nous tenterons de les préciser dans la discussion de ce chapitre, paragraphe 5.3.

5.2 Stades d'arrêt du développement embryonnaire.

Après avoir établi qu'au cours de la segmentation, la radiosensibilité de l'embryon est liée au nombre de noyaux, nous avons cherché à préciser le mode d'action de l'irradiation par l'étude des stades auxquels l'embryogenèse est bloquée, soit après application de doses subléthales, soit après application d'une dose forte.

5.2.1 Application de doses subléthales.

L'examen des oeufs irradiés, effectué le jour présumé de l'éclosion, fait ressortir deux types de mortalité embryonnaire :

- une mortalité tardive : les embryons ont presque atteint le stade de l'éclosion mais le nombre d'éclosions est inférieur à celui des "développements avancés".

- une mortalité précose : l'embryogenèse a été stoppée peu de temps après l'irradiation.

Les résultats obtenus après l'application de deux doses (4.10^2 et 6.10^2 rads) montrent que l'importance de chaque type de mortalité varie en fonction du stade irradié : voir les tableaux n° 5-5 et 5-6. Leur représentation graphique (figures 5-5 et 5-6) souligne clairement cinq faits intéressants :

1) une irradiation intervenant au début de la segmentation nucléaire intravitelline entraîne essentiellement une mortalité de type précoce;

2) une irradiation intervenant à la fin de la segmentation superficielle se traduit au contraire par une mortalité de type tardif ;

3) à l'augmentation de la radiosensibilité au cours de la segmentation intravitelline est liée une augmentation de la mortalité précoce ;

4) au stade le plus radiosensible (256 ou 512 noyaux) correspond l'existence simultanée des deux types de mortalité ;

5) à la diminution de la radiosensibilité après l'arrivée des noyaux de segmentation dans le périplasme, correspondent, dans un premier temps, la diminution de la mortalité précoce puis, dans un deuxième temps, la diminution de la mortalité tardive.

5.2.2 Application d'une dose forte.

Les conclusions du paragraphe précédent nous permettent de penser que, durant la seconde moitié de la segmentation, des informations essentielles pour la poursuite de l'embryogenèse sont mises en place :

- avant ce phénomène, la mortalité consécutive à une irradiation est précoce ;

- après ce phénomène au contraire l'arrêt de l'embryogenèse se produit très tardivement.

Tableau n° 5 - 5. Mortalité embryonnaire après une dose de $4\text{-}10^2$ rads appliquée au cours de la segmentation.

Stades irradiés heures de développement à 17, 5°C.	Pourcentage de mortalité embryonnaire tardive *	Pourcentage de mortalité embryonnaire précoce *	Pourcentage de mortalité embryonnaire totale *
2 à 8 h	4 (2 - 6)	61 (57 - 65)	65 (61 - 69)
15 h	11 (9 - 13)	64 (61 - 67)	75 (72 - 78)
19 h	17 (15 - 19)	75 (72 - 78)	92 (90 - 94)
21 h	30 (26 - 34)	58 (54 - 62)	88 (85 - 90)
24 h	37 (34 - 40)	39 (36 - 42)	76 (73 - 79)
28 h	59 (55 - 63)	12 (10 - 15)	71 (67 - 75)
38 h	21 (18 - 25)	7 (5 - 9)	28 (24 - 32)
50 h	0	12 (7 - 20)	12 (7 - 20)

* Intervalle de confiance du pourcentage au risque 5 %.

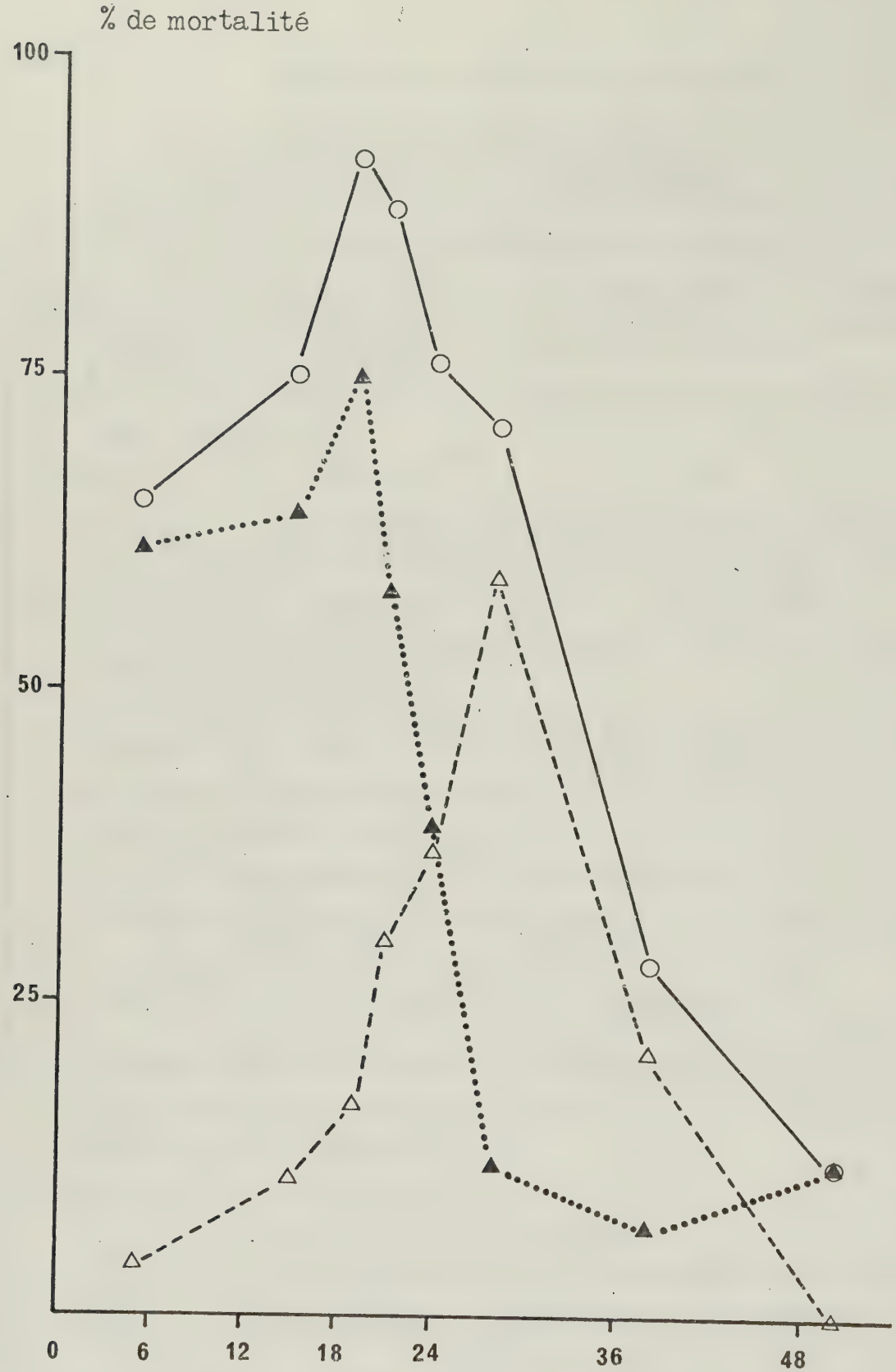


Fig.5_5_ Etude de la mortalité embryonnaire après une dose de 0,4-1

.... ▲ .... mortalité précoce

--- △ --- mortalité tardive

—— ○ —— mortalité totale

Tableau n° 5 - 6. Mortalité embryonnaire après une dose de $6 - 10^2$ rads appliquée au cours de la segmentation.

Stades irradiés heures de développement à 17, 5°C.	Pourcentage de mortalité embryonnaire tardive *	Pourcentage de mortalité embryonnaire précoce *	Pourcentage de mortalité embryonnaire totale *
2 à 8 h	7 (6 - 9)	77 (74 - 80)	84 (82 - 86)
15 h	9 (7 - 12)	86 (83 - 89)	95 (92 - 96
19 h	7 (4 - 11)	93 (89 - 96)	100
21 h	35 (30 - 40)	65 (60 - 70)	100
24 h	59 (55 - 63)	41 (37 - 45)	100
28 h	67 (63 - 71)	29 (25 - 33)	96 (94 - 98)
38 h	76 (72 - 80)	6 (4 - 8)	82 (78 - 85)
50 h	29 (25 - 33)	14 (11 - 17)	43 (39 - 47)
66 h	29 (23 - 36)	0	29 (23 - 36)

* intervalle de confiance du pourcentage au risque 5 %.

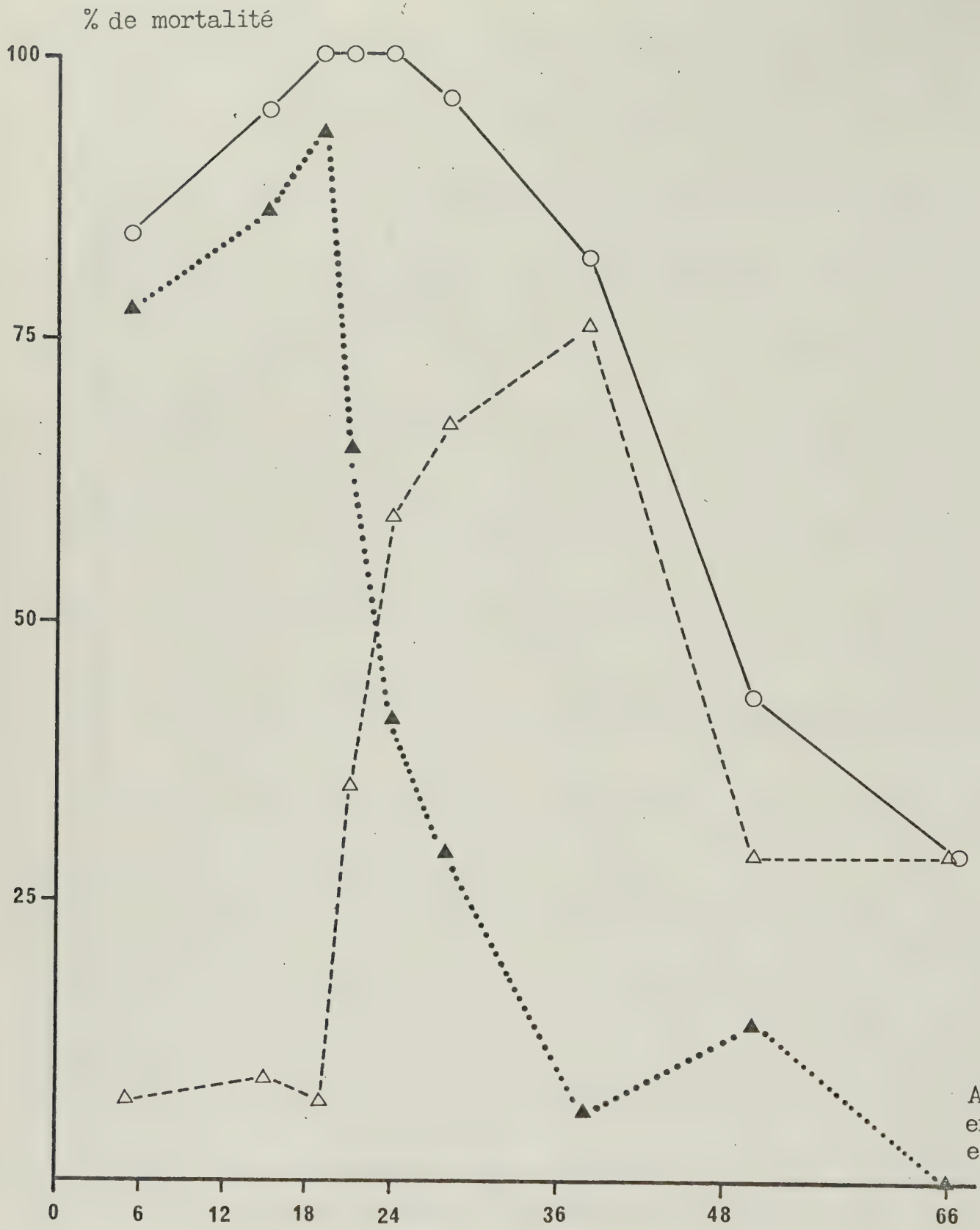


Fig.5_6_ Etude de la mortalité embryonnaire après une dose de $0{,}6_10^{3}$

.... ▲ .... mortalité précoce

--- △ --- mortalité tardive

—— ○ —— mortalité totale

Afin de préciser l'émission de ces informations, nous avons étudié, après irradiation par une dose forte (5.10^3 rads), largement supérieure à la dose léthale, l'arrêt de l'embryogenèse, en fonction du stade embryonnaire irradié.

5.2.2.1 Résultats. (Planches 4 - 5 - 6 et 7)

Les embryons examinés peuvent être répartis en quatre catégories bien distinctes :

1) arrêt du développement sans constitution d'un blastoderme : le cytoplasme est condensé en gros îlots, situés ou non à la périphérie de l'oeuf ; certains d'entre eux contiennent un gros noyau anormal, polylobulé, à chromatine condensée et parfois un ou plusieurs micronoyaux. Ces îlots contiennent une quantité de cytoplasme correspondant à plusieurs fois celle qui existe au niveau de chaque énergide lors d'un développement normal. Les îlots périphériques comprennent certainement une partie du périplasme : entre les îlots celui-ci est en effet beaucoup moins épais que le périplasme d'un oeuf témoin en cours de segmentation nucléaire intravitelline.

2) arrêt du développement au stade blastoderme : un blastoderme apparemment normal se constitue mais les mouvements cellulaires, caractéristiques de la blastula âgée (≃ 16 000 noyaux) ne se produisent pas. L'arrêt du développement se produit donc avant la gastrulation.

3) arrêt du développement après une gastrulation aberrante : les migrations des cellules blastodermiques se produisent mais n'aboutissent pas à l'édification d'une bandelette ; des amas cellulaires se constituent, parfois de façon totalement anarchique, mais le plus souvent au pôle postérieur de l'oeuf : une partie du matériel cellulaire s'invagine à cet endroit, formant un puits plus ou moins net. Nous considérons que ce phénomène de gastrulation aberrante correspond au phénomène d'exogastrulation observé chez les Amphibiens (LABROUSSE, 1966).

4) arrêt du développement après formation d'une bandelette embryonnaire: ces bandelettes, plus ou moins tordues, montrent un début de segmentation et de petites ébauches d'appendices dans la région céphalo-thoracique. Elles n'évoluent pas au-delà du stade 45 heures à 25°C.

Le tableau ci-dessous montre que le stade auquel se produit l'arrêt de l'embryogenèse dépend du stade embryonnaire irradié :

tableau n° 5-7

5.2.2.2 Conclusion.

Une forte irradiation entraîne l'arrêt du développement embryonnaire :

- avant l'édification du blastoderme si elle intervient au cours des 7 premières mitoses de segmentation ;
- au stade blastoderme, sans que se produisent des mouvements de gastrulation, si elle intervient au cours des cycles mitotiques 10 et 11, c'est-à-dire à la fin de la segmentation intravitelline ;
- après une gastrulation aberrante et sans constitution d'une bandelette si elle intervient au cours des cycles mitotiques 12 et 13, c'est-à-dire, après la pénétration des noyaux dans le périplasme, au cours des deux premières mitoses superficielles (jeune blastula) ;
- après l'édification d'une bandelette embryonnaire, bien distincte de l'aire extra-embryonnaire, en position typique mais incapable d'évoluer au delà d'un début de segmentation, si l'irradiation intervient après le 13e cycle mitotique (blastula moyenne et blastula âgée).

5.3 Discussion et conclusions : origine et importance relative des deux types de mortalité.

La mortalité embryonnaire est de type précoce ou tardif en fonction de la phase de segmentation au cours de laquelle est intervenue l'irradiation (paragraphe 5.2.1).

Les conclusions du paragraphe 5.2.2 fournissent de précieuses informations pour expliquer ce phénomène :

1) existence de trois vagues d'informations nécessaires pour le déroulement de l'embryogenèse jusqu'au stade bandelette embryonnaire.

2) nécessité d'autres informations pour la poursuite ultérieure du développement.

Tableau 5 - 7. Arrêt du développement embryonnaire après une dose de $5\text{-}10^3$ r appliquée au cours de la segmentation.

Stades irradiés, développement à 25°C.	Nombre d'oeufs irradiés par 5.10^3 r.	Arrêt du développement embryonnaire : sans édification d'un blastoderme (%)	au stade blastoderme (%)	après une gastrulation aberrante (%)	au stade bandelette (%)
1 h à 6 h	254	100	0	-	-
9 h à 11 h	192	4	96	-	-
11 h à 12h30	165	0	40	60	-
12 h à 15 h	196	-	11	89	-
13 h à 14 h	472	-	16	84	-
13 h à 15 h	197	-	6	94	0
15 h à 17 h	147	-	0	65	35
16 h à 18 h	282	-	-	68	32
17h30 à 19h30	268	-	-	54	46
18 h à 20 h	266	-	-	29	71
20 h à 22 h	504	-	-	20	80
22 h & 23 h	140	-	-	3	97

Dans ces conditions, les cinq faits établis au paragraphe 5.2.1 peuvent être expliqués de la manière suivante :

(1) une irradiation intervenant au début de la segmentation entraîne une mortalité précoce ; en effet, une lésion de l'ADN se traduira :

- soit par un arrêt de sa réplication, donc de la segmentation nucléaire : réponse à une forte dose (5.10^3r) ;
- soit par une transcription erronée : l'absence des informations nécessaires au déroulement de l'embryogenèse entraînera l'arrêt de celle-ci à l'un des premiers stades embryonnaires (blastoderme, gastrula ou jeune bandelette) ; c'est le type de réponse après une dose sublétale (6.10^2r) ;

(2) une irradiation intervenant à la fin de la segmentation entraîne une mortalité tardive : une lésion de l'ADN ne peut plus empêcher l'édification de la bandelette car la transcription des informations nécessaires est achevée lorsque la lésion est produite. Elle se traduira par des troubles de l'organogenèse, troubles dont l'effet léthal ne se produira que pendant le seconde moitié de l'embryogenèse ;

(3) l'augmentation de la radiosensibilité au cours de la segmentation intravitelline entraîne uniquement l'augmentation de la mortalité précoce : les conséquences d'une lésion sont celles décrites ci-dessus (1), mais la taille de la structure sensible, l'ADN, augmente tandis que les possibilités de réparation restent identiques pendant les sept premiers cycles mitotiques ;

(4) au stade le plus radiosensible, c'est-à-dire à la fin de la segmentation intravitelline, correspondent :

a) une chute de l'importance de la mortalité précoce,

b) une augmentation de l'importance de la mortalité tardive.

La transcription des informations est alors engagée ; une irradiation modérée n'en bloquera pas le déroulement (seule une forte dose provoquera un blocage). Elle aura pour conséquences des lésions de l'ADN ; celles-ci se traduiront par des informations erronées ou manquantes, dont l'effet léthal ne sera révélé que beaucoup plus tard ;

(5) la diminution de la radiosensibilité entraîne donc :

1) une diminution de la mortalité précoce : la transcription des informations nécessaires à l'édification du blastoderme et à la gastrulation est déjà effectuée ;

2) une diminution de la mortalité tardive : après le stade blastula à 8000 noyaux, les informations nécessaires à l'édification de la bandelette sont émises (voir fait n° 2) ; il existe alors peut-être une possibilité de réparation de certaines lésions de l'ADN avant que soient transcrites les informations nécessaires aux différentes phases de l'organogenèse.

CHAPITRE VI

ETUDE DE LA DEUXIEME PERIODE DE RADIOSENSIBILITE MAXIMALE.

Les variations de la DL50 (paragraphe 4.2.3.1) sont pratiquement nulles entre le début de la gastrulation (1 jour à 25°C) et les premières phases de l'organogenèse (2 jours 1/2 à 25°C). Au contraire, les variations de la Do (paragraphe 4.3.1) indiquent que la radiosensibilité embryonnaire s'accroît après le début de la gastrulation pour atteindre une valeur maximale au stade 2 jours à 25°C.

L'étude des pourcentages d'éclosion après 3 doses supérieures à la DL50 permet de mieux préciser les variations de la radiosensibilité au cours des deuxième et troisième jours de développement à 25°C.

6.1 Résultats après application de trois doses sublétales.

6.1.1 Tableau.

Les pourcentages d'éclosion, en fonction du stade irradié et de la dose utilisée, sont rassemblés dans le tableau ci-dessous (tableau n° 6-1).

Il faut noter que la mortalité embryonnaire, consécutive à l'irradiation, a toujours un caractère tardif : aucune des trois doses utilisées dans cette expérience n'entraîne en effet un arrêt rapide de l'embryogenèse.

6.1.2 Représentation graphique.

Pour chacune des trois doses utilisées, les variations du pourcentage d'éclosion observées en fonction du stade irradié, sont représentées en coordonnées semi-logarithmiques (logarithme de l'effet en fonction du stade irradié) : figure 6-1.

Ces résultats montrent :

- que la radiosensibilité embryonnaire s'accroît au cours du deuxième jour de développement à 25° C
- qu'elle diminue très rapidement au cours du troisième jour
- que la radiosensibilité est maximale après 45-48 heures de développement à 25°C.

Après application d'une dose modérée (5.10^2r), aucun phénomène de remplacement de l'écusson embryonnaire irradié par un embryon secondaire, comparable à celui mis en évidence chez Acheta domesticus par SCHWALM (1965) et HEINIG (1967), n'est observé dans le cas de Leptinotarsa. Parallèlement, notons qu'une irradiation subléthale n'entraine pas un retard significatif des éclosions.

6.2 Blocage du développement embryonnaire après application d'une forte dose. (Planches 7 - 8 et 9)

L'embryogenèse se poursuivant dans tous les cas après une irradiation subléthale, seule, l'utilisation d'une forte irradiation (5.10^3r) est susceptible de mettre en évidence l'existence éventuelle d'un blocage de l'embryogenèse.

Nous obtenons deux types de réponse en fonction du stade embryonnaire irradié :

1) 5.10^3r après 1 jour 1/2 de développement à 25°C : l'arrêt de l'embryogenèse est immédiat. La bandelette embryonnaire ne poursuit pas son étalement mais se contracte ; un bourrelet borde la bandelette observée 24 heures de développement à 17,5°C après l'irradiation. Le sillon de gastrulation est encore visible dans la région abdominale qui ne dépasse guère le pôle postérieur de l'oeuf. Aucune trace d'appendice ni de segmentation n'est visible. La désorganisation de l'embryon se

Tableau n°6-1: Deuxième période de radiosensibilité maximale .

Stades irradiés, développement à 25°C	Nombre d'oeufs irradiés	Dose en rads	Pourcentage d'éclosion *	
1 jour	637	8.10^2	22	(19 - 26)
	510	9.10^2	16	(13 - 19)
	391	10^3	12	(9 - 16)
1 jour 1/2	234	8.10^2	15	(10 - 21)
	152	9.10^2	3, 3	(1 - 8)
	545	10^3	1, 5	(0, 6 - 3)
1 jour 3/4	374	9.10^2	3	(1, 5 - 5, 3)
2 jours	248	8.10^2	7	(4 - 11)
	305	9.10^2	1, 6	(1, 1 - 4)
	292	10^3	0	(0 - 1, 3)
2 jours 1/4	253	9.10^2	6, 3	(3, 8 - 10)
2 jours 1/2	154	8.10^2	31	(24 - 39)
	264	9.10^2	25	(19 - 32)
	881	10^3	7	(6 - 9)
3 jours	226	8.10^2	84	(78 - 89)
	358	10^3	74	(71 - 82)

* intervalle de confiance du pourcentage au risque 5 %.

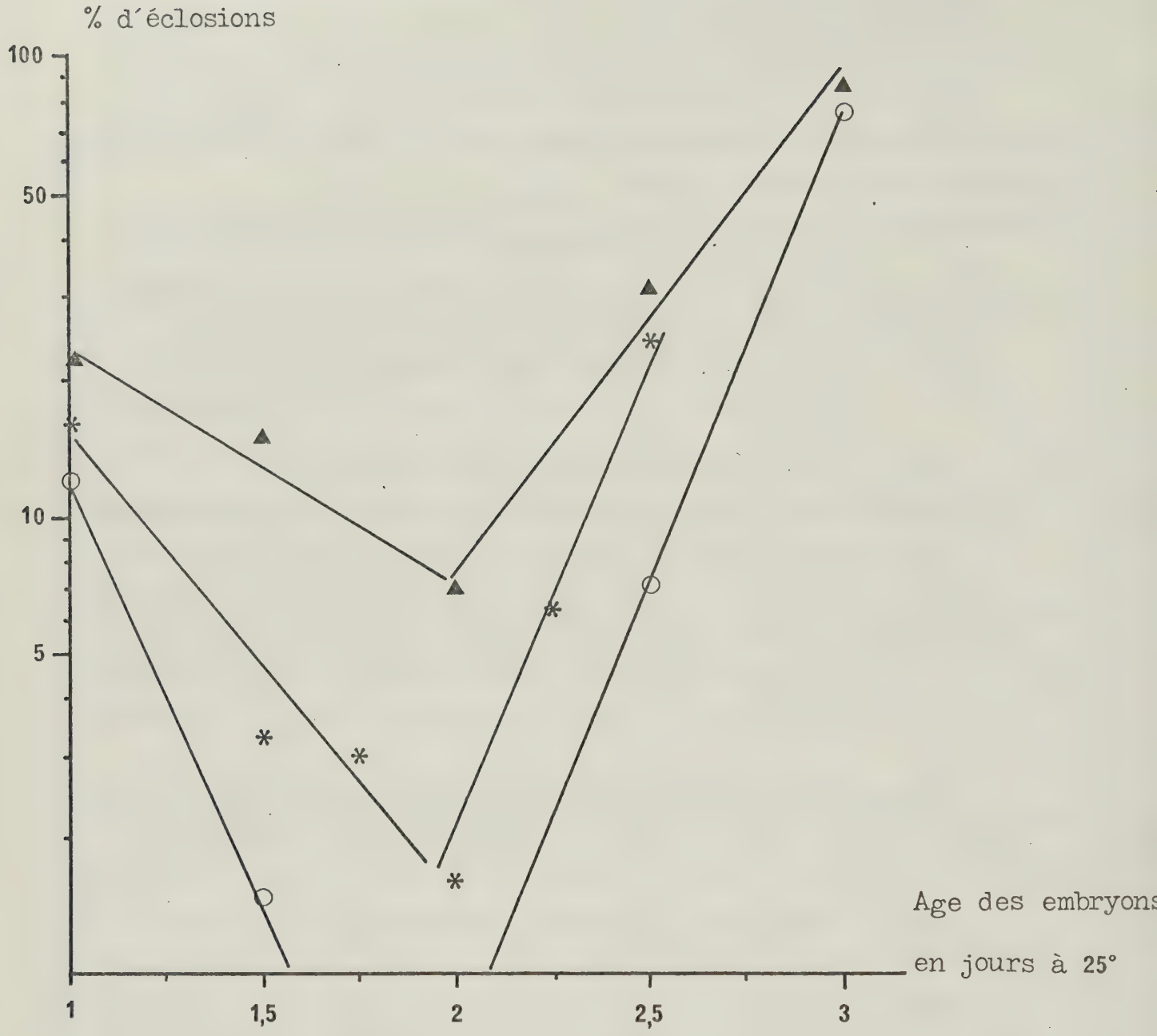


Fig.6_1_ Deuxième période de radiosensibilité maximale.

Doses: ▲ $0,8 \cdot 10^3$ r

* $0,9 \cdot 10^3$ r

○ 10^3 r

produit très rapidement : 24 heures à 25°C après l'irradiation, elle est totale;

2) 5.10^3r après 2 jours ou 2 jours 1/2 de développement à 25°C : l'arrêt de l'embryogenèse ne se produit pas immédiatement. Les embryons irradiés n'évoluent pas aussi rapidement que les témoins. Les appendices sont moins développés, la progression des flancs est plus faible. Les bandelettes semblent, là encore, se contracter ; le proctodeum, par exemple, se trouve en face ventrale et non au pôle postérieur. Les embryons irradiés sont incapables d'englober le vitellus, mais le processus de désorganisation rapide ne se produit pas.

L'irradiation des embryons par une forte dose permet de conclure que des informations,nécessaires,à l'organogenèse sont transcrites entre le stade 1 jour 1/2 à 25°C et le stade 2 jours à 25°C.

6.3. Notion de tissu-cible . (Planche 10)

Chez les Mammifères, les radiobiologistes ont établi la notion de tissu-cible ; la période de radiosensibilité maximale de l'embryon de souris est ainsi liée à l'organogenèse du système nerveux, RUSSELLet RUSSELL(1954). L'examen histologique des embryons de Leptinotarsa, irradiés au début de l'organogenèse, ne nous a pas permis d'établir une conclusion du même ordre. Nous constatons par exemple que la multiplication des neuroblastes se produit même après une irradiation léthale pour 100% des embryons : 10^3r au stade 2 jours à 25°C. Une seule observation indique l'existence éventuelle d'un tissu-cible : les cellules au contact du vitellus (endoderme ou Dotterzellenlamelle) montrent une pycnose plus précose et plus importante que les cellules ectodermiques ou mésodermiques. Il faut retenir cette conclusion avec beaucoup de prudence car des phénomènes de pycnose existent au contact du vitellus chez les embryons témoins.

6.4 Discussion des résultats et conclusion.

Nous avons mis en évidence une augmentation de la radiosensibilité au cours de la gastrulation, puis une diminution après le début de l'organogenèse.

L'augmentation de la radiosensibilité ne peut pas être liée directement aux processus de gastrulation, car les informations nécessaires à l'édification de la bandelette sont transcrites dès le stade blastula âgée (chapitre 5).

D'autre part, l'augmentation puis la diminution de la radiosensibilité ne peuvent pas être attribuées à l'évolution du rythme mitotique puisque celui-ci ralentit après la segmentation.

Par contre, la radiosensibilité embryonnaire semble évoluer parallèlement à l'activité de synthèse des ARN ribosomiaux (r ARN). En effet, HARRIS et FORREST (1967) montrent que, chez l'Hémiptère Oncopeltus fasciatus, la synthèse des r ARN débute avec la gastrulation. EUDY 1969 et 1970 situe celle-ci un peu plus tardivement chez le Diptère Phormia regina. HANSEN-DELKESKAMP (1967-1968) chez l'Orthoptère Acheta domesticus et SCHNETTER (1970) chez le Coléoptère Leptinotarsa decemlineata, indiquent que le début de la synthèse des r ARN est un peu plus précoce : stade jeune blastoderme. Les résultats obtenus après injection de précurseurs marqués dans les oeufs de Leptinotarsa et autoradiographie par LOCKSHIN (1966) et MAISONHAUTE (1971) sont en bon accord avec les résultats obtenus par les méthodes biochimiques. LOCKSHIN montre que l'incorporation d'uridine marquée ne se produit pas dans les noyaux de segmentation avant leur arrivée dans le périplasme. MAISONHAUTE observe un marquage important des nucléoles au stade blastula âgée (≃ 16 000 noyaux) et précise que, dès ce stade, un marquage est visible aussi au niveau cytoplasmique.

D'autre part, les résultats de HANSEN-DELKESKAMP, HARRIS et FORREST, SCHNETTER indiquent que la synthèse des r ARN diminue rapidement après le début de l'organogenèse. Chez Oncopeltus par exemple, le ralentissement de la synthèse des r ARN se produit rapidement dès la fin de la première moitié de l'embryogenèse.

Il est intéressant de noter l'évolution parallèle de la radiosensibilité embryonnaire chez Leptinotarsa et de l'activité de synthèse des r ARN dans l'embryon d'Oncopeltus.

Nous pensons donc que l'évolution de la radiosensibilité embryonnaire, après le stade blastula, est directement liée aux synthèses d'ARN qui précèdent l'organogenèse.

CHAPITRE VII

LIMITES DES POSSIBILITES DE DEVELOPPEMENT LARVAIRE APRES IRRADIATION DE L'OEUF.

7.1 Mortalité larvaire en fonction du stade embryonnaire irradié (BLUZAT, 1972).

L'étude des possibilités d'éclosion et des stades d'arrêt de l'embryogenèse, en fonction du stade embryonnaire irradié, nous ayant montré une variation complexe de la radiosensibilité au cours de la première moitié du développement embryonnaire, deux hypothèses contradictoires se présentent :

1) la mortalité larvaire n'est pas liée au stade embryonnaire irradié,

2) la mortalité larvaire varie en fonction du stade embryonnaire irradié.

La seconde hypothèse entraîne, en cas de vérification expérimentale, deux possibilités :

a) les périodes de radiosensibilité minimale et maximale, déduites de l'importance de la mortalité larvaire, sont-elles différentes de celles mises en évidence par l'étude de la mortalité embryonnaire ?

b) les variations de la mortalité embryonnaire et larvaire sont-elles au contraire analogues ? Dans ce cas la radiosensibilité embryonnaire serait un phénomène dont les conséquences se répercutent de façon univoque au cours de tout le développement.

7.1.1 Tableau

Dans le but d'apporter une réponse à ces questions, nous avons jugé bon d'étudier en détail la mortalité larvaire en fonction du stade irradié.

Les résultats obtenus après application, à différents stades embryonnaires, d'une dose de 7.10^2 rads, dose supérieure dans tous les cas à la Do, sont rassemblés dans le tableau n° 7-1.

7.1.2 Représentation graphique.

Les résultats du tableau n° 7-1 permettent de représenter, dans le graphique ci-dessous (fig. 7-1) :

1) la mortalité larvaire totale = $100 - \frac{\text{nombre d'Imagos}}{\text{nombre de } L_1} \cdot 100$

2) la mortalité larvaire précoce = $\frac{\text{nombre de } (L_1 + L_2) \text{ morts}}{\text{nombre de } L_1} \cdot 100$

3) la mortalité larvaire tardive = $\frac{\text{nombre de } L_4 - \text{nombre d'Imagos}}{\text{nombre de } L_1} \cdot 100$

L'étude de la mortalité larvaire totale conduit à des conclusions identiques à celles établies après l'étude de la mortalité embryonnaire :

- variation de la mortalité larvaire en fonction du stade irradié,
- existence des mêmes stades radiosensibles et radiorésistants.

7.2 Radiorésistance particulièrement élevée du début de la segmentation (BLUZAT, 1964 et 1970).

Les résultats exposés ci-dessus indiquent que la mortalité larvaire entraînée par une irradiation, intervenant au début de la segmentation nucléaire intravitelline, n'est guère différente de celle des témoins : 24% pour les témoins, 33% après une dose de 7.10^2 r. L'analyse statistique confirme que ces résultats ne sont pas significativement différents ($\varepsilon = 1,74$ donc $< 1,96$, risque 5%).

Afin de mettre plus clairement en évidence la faible mortalité larvaire entraînée par une irradiation subie au début de la segmentation, nous avons repris l'étude des trois stades les moins radiosensibles avec une dose nettement plus élevée, 10^3 rads, ne permettant qu'un très faible pourcentage d'éclosion. Les résultats, rassemblés ci-dessous (tableau n° 7-2) montrent :

- que le début de la segmentation est de loin le stade le moins radiosensible : 60% des animaux éclos après application d'une dose de 10^3 rads parviennent à l'état imaginal ;

- que cette faible radiosensibilité est sans doute liée à l'existence de phénomènes de réparation, car un effet de seuil très important existe : seule, la dose de 10^3 rads entraîne une mortalité larvaire plus importante que celle des témoins ($\varepsilon = 2,21$, soit une différence significative au risque 3%).

7.3 Caractère précoce ou tardif de la mortalité larvaire.

Nous avons recherché les raisons du caractère précoce ou tardif de la mortalité larvaire ; il peut dépendre :

1) de la radiosensibilité du stade embryonnaire irradié,

2) de la dose utilisée.

L'examen des tableaux 7-1 et 7-2 montre clairement que la première hypothèse doit être rejetée : la mortalité larvaire entraînée par une irradiation de l'embryon est essentiellement une mortalité de caractère précoce, quel que soit le stade embryonnaire irradié. De plus, nous constatons que l'augmentation de la mortalité larvaire, due à une augmentation de la dose, entraîne avant tout une mortalité précoce plus importante : seule la seconde hypothèse peut donc être retenue.

Les résultats, obtenus après des essais d'élevage de larves issues d'oeufs irradiés par des doses importantes au cours de la seconde moitié du développement embryonnaire, confirment le bien fondé de cette hypothèse.

Nous ne retenons ici que les résultats acquis après irradiation d'embryons âgés de 3 jours 1/2 à 25° C (organogenèse déjà très avancée).

1) Après une dose de 3.10^3 rads : mort des larves aux stades L_1 et L_2; présence de larves L_2 prolongées qui meurent, incapables d'effectuer la deuxième mue larvaire.

2) Après une dose de 6.10^3 rads : mort des larves au stade L_1, souvent sans prise de nourriture ; les larves qui se nourrissent meurent au stade L_1 (stade L_1 prolongé) ou au stade L_2, aussitôt la première mue larvaire qu'elles ne terminent pas le plus souvent.

Tableau n°7-1: Mortalité larvaire en fonction du stade embryonnaire irradié.(dose: $0,7.10^3$ r)

Stades embryonnaires irradiés développement à 25°C	Nombre de L_1	Pourcentage de mortalité larvaire au cours des stades L_1 et L_2 *	au cours des stades L_4 + nymphe *	totale *
Témoins	173	11 7 - 16	10 6 - 15	24 18 - 31
1 à 7 h	282	13 8 - 18	11 7 - 16	33 27 - 39
12 h **	90	49 38 - 60	12 8 - 17	70 59 - 79
1 jour	364	29 24 - 34	10 8 - 13	46 41 - 51
1 jour ½	419	66 62 - 70	9 7 - 12	88 85 - 90
2 jours	190	72 65 - 78	8 4 - 13	89 84 - 93
2 jours ½	252	34 30 - 38	23 17 - 30	62 58 - 66

* intervalle de confiance du pourcentage au risque 5 %.

** à ce stade 6.10^2 rads (pas d'éclosions après 7.10^2 rads).

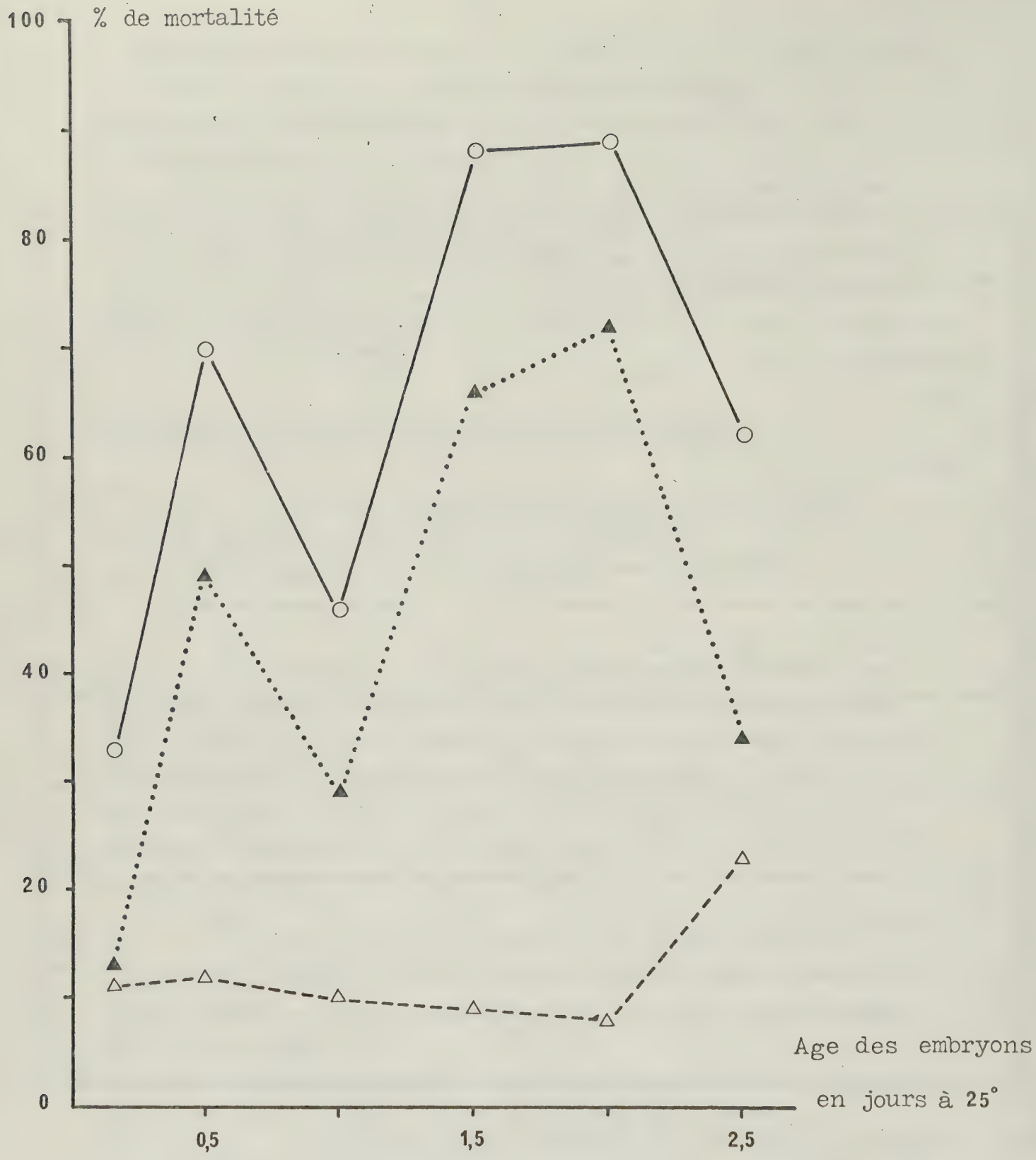


Fig.7_1_ Etude de la mortalité larvaire en fonction du stade embryonnaire irradié.(dose 0,7-10^3r)

▲ mortalité précoce

△ mortalité tardive

○ mortalité totale

Tableau n°7-2: Mortalité larvaire en fonction du stade embryonnaire irradié. (dose: 10^3 r)

Stades embryonnaires irradiés : développement à 25°C	Nombre de L_1	Pourcentage de mortalité larvaire au cours des stades $L_1 + L_2$ *	au cours des stades L_4 + nymphes *	totale *
Témoins	173	11 7 - 16	10 6 - 15	24 18 - 31
1 à 7 h	81	20 12 - 30	14 7 - 24	41 30 - 53
1 jour	72	51 39 - 63	19 10 - 30	86 75 - 93
2 jours ½	86	55 44 - 66	8 3 - 16	98 93 - 98,2

* intervalle de confiance du pourcentage au risque 5 %.

3) Après une dose de 9.10^3 rads : en général toutes les larves meurent au stade L_1, sans prise de nourriture pour la plupart d'entre elles ; quelques-unes effectuent un début de mue qui avorte.

7.4 Conclusions.

L'étude de la mortalité larvaire, consécutive à une irradiation subie au cours de l'embryogenèse, confirme en tous points les conclusions formulées au sujet de la radiosensibilité embryonnaire dans les chapitres précédents. Les résultats exposés ci-dessus confirment l'existence au cours de l'embryogenèse :

1) de phases très radiosensibles,

2) de phases peu radiosensibles.

7.4.1 Trois phases peu radiosensibles :

a) début de la segmentation : les larves, obtenues après irradiation de l'oeuf à ce stade, sont tout à fait normales en apparence. Après une dose de 7.10^2 rads la mortalité larvaire n'est pas différente de celle des témoins. Elle est à peine plus élevée après 10^3 rads, dose léthale pour 95% des embryons.

Nous rencontrons ici le phénomène de tout ou rien mis en évidence au chapitre 5 : quelle que soit la dose utilisée (inférieure bien entendu à la DL 100 embryonnaire) des imagos sont obtenus, avec une mortalité larvaire voisine de celle des témoins, quand l'irradiation intervient au début de la segmentation (BLUZAT, 1964).

b) blastula âgée - jeune gastrula : la mortalité larvaire, après une dose de 7.10^2 rads, est à peine le double de celle des témoins ; la radiosensibilité de ce stade est beaucoup plus faible que celle des stades antérieurs et ultérieurs.

c) deuxième moitié de l'embryogenèse : la radiosensibilité diminue dès que l'organogenèse est en cours, c'est-à-dire au delà du deuxième jour de développement à 25°C.

7.4.2 Deux phases très radiosensibles :

a) fin de segmentation intravitelline et préblastoderme : ce stade est certainement le plus radiosensible de tous. L'étude de la mortalité larvaire confirme l'existence de l'augmentation de la radiosensibilité au cours de la segmentation nucléaire intravitelline et sa diminution au cours de la segmentation superficielle.

b) gastrula âgée et début de l'organogenèse : la bandelette âgée de 1 jour 1/2 ou 2 jours à 25°C est environ quatre fois plus radiosensible (7.10^2 rads) que l'oeuf en début de segmentation. La deuxième phase de radiosensibilité maximale débute avant que les phénomènes d'organogenèse soient visibles. L'étude de la mortalité larvaire souligne l'existence et la durée de cette phase plus clairement que l'étude de la mortalité embryonnaire.

7.4.3 Caractère précoce de la mortalité larvaire.

La mort des larves survient essentiellement au voisinage de la première mue :

- celle-ci se produit, mais les animaux meurent au stade L_2, plus ou moins rapidement selon l'importance de la dose ;
- elle ne peut s'effectuer ; la mort intervient :
  - ° dans les premières 48 h si la dose est élevée,
  - ° au cours d'un stade L_1 prolongé (jusqu'à 7 jours) si la dose est faible.

La mortalité larvaire est directement liée au phénomène de mue et sa précocité dépend uniquement de l'importance de la dose.

CHAPITRE VIII

FECONDITE DES IMAGOS ISSUS D'EMBRYONS IRRADIES (CROISEMENT ENTRE EUX).

8.1 Irradiation totale.

L'étude de la fécondité des imagos, issus d'oeufs irradiés in toto, montre deux types de réaction, en fonction de la période de l'embryogenèse au cours de laquelle intervient l'irradiation.

8.1.1 Irradiation avant la gastrulation.

Les imagos obtenus pondent dans tous les cas. Quand l'irradiation intervient au cours des sept premiers cycles de segmentation, les imagos expérimentaux pondent autant que les imagos témoins. Quand l'irradiation est subie après le stade 128 noyaux de segmentation, la fécondité des imagos expérimentaux est inférieure à celle des témoins.

La fertilité des pontes a été vérifiée dans quatre cas : résultats rassemblés dans le tableau n° 8-1.

Tableau n° 8 - 1

Stade embryonnaire irradié = développement à 25°C	Dose en rads	Nombre de pontes testées	Pourcentage d'éclosions *	Différence significative
1 à 7 heures	10^3	44	90 (88-92)	non (= 1,40)
10 à 12 heures	6.10^2	8	86 (82-89)	non (= 0,32)
16 à 19 heures	7.10^2	12	89 (85-92)	non (= 0,75)
1 jour	7.10^2	35	88 (86-90)	non (= 0,43)
Témoins	0	8	87 (83-90)	

La fertilité des pontes n'est donc jamais significativement différente de celle des témoins. De plus, l'examen des larves n'a permis de déceler aucune anomalie le jour de l'éclosion.

L'élevage de la génération F_1 (parents issus d'oeufs irradiés n'a été poursuivi qu'après irradiation au cours des premières mitoses de segmentation (dose utilisée : 10^3 rads) :

1) élevage témoin : 107 imagos obtenus avec 143 L_1 (mortalité larvaire : 25%),
2) élevage expérimental : 102 imagos obtenus avec 150 L_1 (mortalité larvaire : 32%).

La différence entre l'élevage expérimental et l'élevage témoin n'est pas significative ($\varepsilon = 1{,}32$).

8.1.2 Irradiation après la gastrulation

Aucune ponte n'a pu être obtenue des imagos issus d'oeufs irradiés par une dose de $7.-10^2$ rads, après 1 jour 1/2, 2 jours et 2 jours 1/2 de développement à 25°C. L'élevage a été poursuivi pendant 6 semaines dans des conditions favorables de nourriture et d'éclairement (ponte normale chez les témoins).

La mortalité imaginale est supérieure à celle des témoins (10%) :

irradiation subie à	1 jour 1/2	9/34 soit 24%
	2 jours	11/20 soit 55%
	2 jours 1/2	27/60 soit 45%

La dissection des imagos survivants permet d'observer que :

- tous les ovaires paraissent atrophiés,
- un tiers seulement des testicules paraissent normaux, les autres étant plus ou moins atrophiés.

Dans tous les cas, les conduits génitaux et les glandes annexes de l'appareil génital ont une apparence normale.

8.1.3 Discussion.

Des résultats exposés ci-dessus découle la conclusion suivante : une irradiation subie au cours de l'embryogenèse :

- entraîne la stérilité à l'état imaginal si elle intervient après la gastrulation,
- n'entraîne pas de stérilité à l'état imaginal si elle intervient avant la gastrulation.

Deux hypothèses peuvent expliquer la stérilité des imagos :

1) le mauvais état physiologique général, attesté par une mortalité supérieure à celle des témoins, ne leur permet peut-être pas de mener à bien la maturation des produits sexuels.

2) les cellules germinales initiales (cellules polaires postérieures après leur migration) sont plus radiosensibles que les autres cellules embryonnaires ; cette plus grande sensibilité n'existerait qu'après le début de la gastrulation (soit après un jour de développement à 25°C). Si la seconde hypothèse est exacte, il y aurait là une preuve formelle de la plus grande sensibilité des cellules germinales, non seulement par rapport aux cellules somatiques déjà différenciées mais aussi vis-à-vis des autres cellules embryonnaires.

8.2 Irradiation partielle (BLUZAT, 1967 et 1968)

Le procédé expérimental est décrit aux paragraphes 2.3 et 3.1 .

8.2.1 Irradiation du cytoplasme polaire postérieur de l'oeuf au début de la segmentation.

Une fraction des larves obtenues a fait l'objet d'une étude histologique (paragraphe 3.2), les autres ont été mises en élevage. Les résultats figurent dans le tableau n° 8-2.

Tableau n° 8 - 2

Doses de rayons X en roentgens	Nombre d'Imagos / Nombre de larves	Pourcentage de mortalité larvaire	Pourcentage de larves dont les gonades sont dépourvues de gonies (paragraphe 3.3)
$2,5.\ 10^5$	38/40	5%	0%
10^6	22/25 *	12%	7,5%
6.10^6	36/55	35%	23%
10^7	16/39	59%	60%
Témoins	36/40	10%	0%

* Un adulte était pourvu d'un testicule normal et d'un testicule atrophié.

Les doses $2,5.\ 10^5$r et 10^6r ne provoquent pas une mortalité larvaire significativement différente de celle des témoins.
Au contraire les doses 6.10^6r ($\varepsilon = 2,8$) et 10^7 ($\varepsilon = 4,6$ entraînent une mortalité importante. Celle-ci est proportionnelle à l'importance de la dose : la différence est significativement plus élevée dans le deuxième cas ($\varepsilon = 2,3$).

Nous n'avons obtenu aucun adulte agamétique. La fécondité et la fertilité des imagos non disséqués aussitôt leur émergence nous ont paru normales, mais l'expérience n'a pas été conduite dans des conditions qui nous permettent de l'affirmer avec certitude. L'examen de la mortalité larvaire et de la proportion de L_1 dont les gonades sont dépourvues de gonies nous permet de penser que les imagos, apparemment normaux, correspondent :

- d'une part aux larves dont les gonades sont normales,
- d'autre part aux larves dont les gonades ne sont pourvues que d'un faible nombre de gonies.

Une régulation semble se produire au cours du développement larvaire dans le second cas.

8.2.2 Irradiation des cellules polaires postérieures.

Les larves, issues d'oeufs irradiés au stade blastula âgée par une dose de 10^4r, meurent toutes au premier stade larvaire.

L'étude des larves issues d'oeufs irradiés au stade jeune blastula se révèle plus fructueuse :

Tableau n° 8 - 3

Dose de rayons X en roentgens	Nombre d'Imagos / Nombre de larves	Pourcentage de mortalité	Pourcentage de larves dt les gonades sont dépourvues de gonies	Pourcentage d'adultes agamétiques
3.10^3p	60/200	70%	70%	6,6% (4 cas)
10^4	0/150	100%	94% *	0

* 2 larves pourvues de gonades normales, exception due probablement à une mauvaise orientation des oeufs lors de la ponte.

Nous avons obtenu quatre Imagos mâles pourvus de testicules minuscules, en forme d'haltères typiques : leur taille est du même ordre de grandeur que le canal déférent (environ 0,1 mm). Dans les autres cas, il est nécessaire de supposer l'existence d'un phénomène de régulation du nombre des gonies au cours du développement larvaire pour expliquer l'aspect normal des gonades des imagos.

Par contre, après une dose provoquant avec certitude l'absence de gonie dans les gonades larvaires, aucun adulte ne peut être obtenu ; la plupart des larves meurent dès le premier stade larvaire sans prendre de nourriture.

8.2.3 Discussion.

Deux faits importants se dégagent des résultats exposés ci-dessus :

1) régulation du nombre des gonies ;

2) possibilité de développement extrêmement faible des larves agamétiques.

1) Nos expériences ont montré que les larves ayant un faible nombre de gonies évoluent en adultes normaux, tant du point de vue anatomique que du point de vue fécondité. Ce fait ne peut être expliqué qu'en admettant une régulation du nombre de gonies avant l'ovogenèse et la spermatogenèse. LABEYRIE (discussion dans BLUZAT 1968) nous a suggéré que cette régulation est peut-être dirigée par la partie mésodermique de la gonade : selon cet auteur, le nombre des gonies est normalement placé sous la dépendance du rapport $\frac{\text{masse des cellules mésodermiques}}{\text{masse des gonies}}$ au cours des premiers stades du développement larvaire.

2) Deux hypothèses nous permettent d'expliquer la très forte mortalité des larves agamétiques :

a) les cellules polaires de Leptinotarsa ont peut-être des potentialités aussi étendues que chez les Diptères supérieurs (ANDERSON, 1966). Dans ce cas, elles seraient à l'origine des gonies, d'une part, et de certaines cellules de l'intestin moyen, d'autre part, à l'image de ce qui est connu chez Drosophila (POULSON et WATERHOUSE, 1960).

b) la destruction de la totalité des cellules polaires par les rayons X entraîne, sans aucun doute, la destruction des cellules blastodermiques voisines. Il est en effet nécessaire d'irradier toute la région polaire postérieure : les cellules polaires ne se détachent pas en une masse externe à l'oeuf, comparable à celle observée chez Drosophila. L'irradiation involontaire des cellules blastodermiques, voisines du pôle postérieur de l'oeuf, entraîne sans doute des conséquences qui se révèlent léthales dès le début du développement larvaire. A l'appui de cette hypothèse, nous avons souvent constaté une évagination de l'intestin postérieur chez les larves issues d'oeufs ayant subi une irradiation de 10^4 r.

Stades embryonnaires irradiés	Irradiation totale (rayons γ)	Irradiation localisée (rayons X) : cytoplasme seul	Irradiation localisée (rayons X) : cellules	Doses en rads ou roentgens	Larves agamétiques	Larves agamétiques non viables	Imagos : féconds	Imagos : stériles
Début de la segmentation	*			10^3	0	0	+++	0
		*		10^6	+	+++	++	0
		*		6.10^6	+	+++	++	0
		*		10^7	++	+++	+	0
Fin de la segmentation	*			7.10^2			++	+
			*	3.10^3	++	++	++	+
			*	10^4	+++	+++	0	0
Bandelettes âgées de 1 jour ½ 2 jours à 25°C 2 jours ½	*			7.10^2			0	+++

\+ = quelques cas.
++ = majorité des cas.
+++ = totalité des cas.

Tableau n°8-4: Fécondité des imagos issus d'embryons irradiés.

8.3 Conclusions.

Les conclusions de ce chapitre sont rassemblées dans le tableau n° 8-4, ci-contre.

Nous constatons qu'en général les larves agamétiques, obtenues après irradiation au cours de l'embryogenèse, ne sont pas viables.

Notre travail montre que, si l'induction de la stérilité des imagos est possible aussi bien par une irradiation localisée que par une irradiation totale, pratiquée au cours du développement embryonnaire, cette méthode ne doit absolument pas être envisagée sur le plan pratique dans le cadre de la lutte contre les insectes par la méthode des mâles stériles.

Par contre, l'augmentation de la radiosensibilité de la lignée germinale au cours de la gastrulation pose un problème théorique très intéressant pour les embryologistes.

CHAPITRE IX

FIXATION D'ACTINOMYCINE D TRITIEE AU COURS DE L'EMBRYOGENESE

9.1 Intérêt de la méthode.

Au cours des chapitres précédents, nous avons mis en évidence l'existence de phases embryonnaires très sensibles aux rayonnements ionisants. Nous avons essayé de montrer que ces phases correspondent à des étapes de l'embryogenèse où de nouvelles informations, nécessaires à la poursuite du développement, sont élaborées.

Il nous a semblé bon de confirmer notre interprétation par l'utilisation d'une autre méthode de mesure indirecte de l'activité morphogénétique des noyaux embryonnaires : la fixation d'actinomycine D. REICH et al. (1962) et HARBERS et al. (1963) établissent que l'actinomycine D se combine de façon spécifique. BRACHET et FICQ (1964) prouvent que ce processus se déroule à la fois in vivo (incubation d'ovaires intacts) et in vitro (incubation de coupes histologiques). Cette dernière propriété permet de mesurer, après autoradiographie, la capacité de fixation de l'ADN à divers stades embryonnaires. Chez l'embryon d'Amphibien, BRACHET et HULIN (1969a, b) montrent que la fixation d'actinomycine D tritiée est plus élevée dans les noyaux des tissus en cours de différenciation que dans les noyaux des cellules différenciées.

Les travaux de BERLOWITZ et coll. (1969) et de RINGERTZ et coll. (1969) indiquent que la fixation d'actinomycine marquée est inversement proportionnelle au degré de répresssion de la chromatine : elle donne ainsi une bonne idée de l'activité des gènes au cours de la différenciation cellulaire.

9.2 Fixation de l'actinomycine D tritiée au niveau des noyaux.

Après autoradiographie des coupes histologiques incubées dans une solution d'actinomycine D tritiée (voir la technique au paragraphe 2.6), nous avons compté le nombre de grains par noyau ; les résultats portent sur 60 à 142 noyaux suivant le stade embryonnaire considéré (4 à 8 embryons de même âge). Après déduction du bruit de fond, mesuré sur une surface équivalente du vitellus voisin, nous avons vérifié la distribution normale des résultats relatifs à chaque stade embryonnaire : droite de HENRY après anamorphose (SCHWARTZ, 1963).

Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau n° 9-1.

La fixation d'actinomycine D tritiée, faible au début de la segmentation nucléaire intravitelline, augmente très rapidement et atteint une valeur maximale au stade blastula très jeune (préblastoderme et blastoderme à 2 000 noyaux). La fixation d'actinomycine D tritiée diminue sensiblement au cours de la segmentation superficielle ; elle augmente à nouveau au cours de la gastrulation et se maintient à un niveau élevé au début de l'organogenèse.

Nous avons noté que seuls, les noyaux en interphase, fixent l'actinomycine D tritiée ; nous rejoignons là une observation de BRACHET et PREUMONT (1966) chez Pleurodeles.

9-3 Fixation de l'actinomycine D tritiée au niveau du vitellus.

Pour chacun des huit stades embryonnaires mentionnés dans le tableau n° 9-1, les grains visibles dans soixante unités de surface micrométriques ont été dénombrés. Les résultats obtenus n'indiquent aucune variation significative entre le début de la segmentation (5,95 grains par unité) et l'organogenèse (5,25 grains par unité) : $\varepsilon = 1,32$.

Il faut remarquer que le nombre de grains au-dessus du vitellus est trois fois plus élevé que le bruit de fond mesuré en dehors des coupes histologiques. La fixation d'actinomycine D au niveau du vitellus de l'oeuf de Leptinotarsa est sans doute comparable au phénomène observé chez les Amphibiens par BRACHET et FICQ (1965) en microscopie photonique et par STEINERT et VAN GANSEN (1971) en microscopie électronique. A la différence de ces auteurs, nous n'avons pas pu mettre en évidence une diminution de cette fixation au cours de l'embryogenèse.

9.4 Conclusion : parallélisme entre la fixation d'actinomycine D et la radiosensibilité.

Le graphique ci-contre (Fig. 9-1) indique clairement que la fixation d'actinomycine D est maximale aux deux périodes les plus radiosensibles de l'embryogenèse : la fin de la segmentation nucléaire intravitelline (chapitre 5) et le début de l'organogenèse (chapitre 6). Parallèlement, aux stades blastula âgée et jeune gastrula, correspondent une phase relativement peut radiosensible et une fixation plus faible d'actinomycine D.

De nombreux travaux (revue dans BRACHET et MALPOIX, 1971) établissent que, sauf chez les Mammifères, la segmentation se déroule sous le contrôle d'ARN messagers stables transcrits dès l'ovogenèse. Plus particulièrement chez les Insectes, aucune synthèse d'ARN n'a été mise en évidence au cours de la segmentation intravitelline (revue dans CHEN, 1971 et COUNCE, 1972). La faible fixation d'actinomycine D pendant cette phase est en accord avec ce fait.

Nous pensons que la forte augmentation de cette fixation dès l'arrivée des noyaux au contact du périplasme est un bon exemple du contrôle cytoplasmique de l'activité morphogénétique des noyaux : émission des informations nécessaires à la poursuite du développement au delà de la segmentation (chapitre 5).

Tableau n°9-1: Radiosensibilité et fixation d'actinomycine D.

Durée du développement à 25°C	Stades embryonnaires	Nombre de noyaux examinés : n	Nombre de grains par noyau : m	$\pm 2\frac{\sigma}{\sqrt{n}}$
h 30 ($\pm$ 0 h 30)	64 - 128 noyaux segmentation intravitelline	66	7	$\pm$ 2, 8
h ($\pm$ 1 h)	1 000 - 2 000 noyaux fin de segmentation intravitelline	142	22, 8	$\pm$ 1, 5
h ($\pm$ 1 h)	4 000 - 8 000 noyaux segmentation superficielle	58	17, 1	$\pm$ 1, 2
h ($\pm$ 1 h)	8 000 - 16 000 noyaux segmentation superficielle	63	15, 5	$\pm$ 1
h ($\pm$ 2 h)	Début de gastrulation	88	16, 6	$\pm$ 1
h ($\pm$ 2 h)	Edification du système nerveux	60	22, 5	$\pm$ 1, 6
h ($\pm$ 2 h)	Organogenèse	108	20, 9	$\pm$ 1, 3
h ($\pm$ 2 h)	Organogenèse	60	20	$\pm$ 1, 1

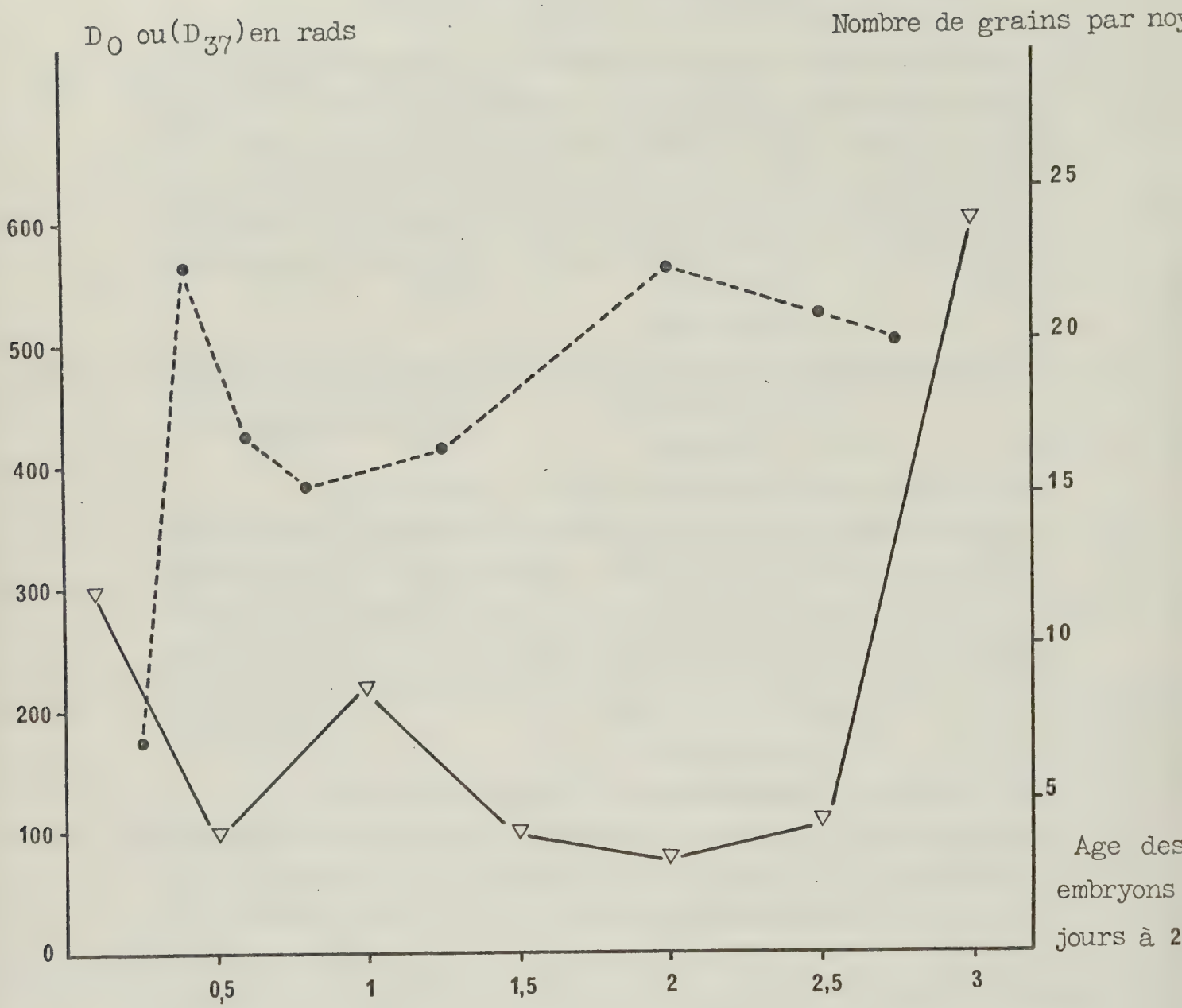


Fig. 9_1_ Radiosensibilité et fixation d'actinomycine D.

—▽— radiosensibilité: D_0(ou D_{37})

---●--- fixation d'actinomycine D

CHAPITRE X

CONCLUSIONS GENERALES

10.1 STRUCTURE DU DETERMINANT GERMINAL.

Le pôle postérieur de l'oeuf de nombreux insectes, dont les Coléoptères, est caractérisé par la présence de l'oosome, structure composée de granules colorables de façon intense par l'hématoxyline (HEGNER, 1908 et 1914). Ces granules sont riches en ARN et en protéines (MULNARD, 1954 - JURA et al., 1958 - BHUYAN et SHAFIQ, 1959 - COUNCE, 1963 - MENG, 1968 - MAHOWALD, 1971 a et b) mais leur composition exacte reste actuellement inconnue.

Leur étude en microscopie électronique, réalisée chez Drosophila par OKADA et WADDINGTON (1959), MAHOWALD (1962, 1968[b], 1971 a et b), GILL (1963) et ULLMAN (1965), chez Wachtliella par WOLFF (1967), chez Miastor par MAHOWALD (1968[a]), chez Pimpla par MENG (1968), chez Coelopa par SCHWALM et al. (1971), chez Leptinotarsa par HAGET (1972) a montré qu'il existe deux types de granules, de structure fibreuse, attachés à la membrane nucléaire à certains stades, mais n'a pas permis de résoudre avec certitude ni le problème de leur origine, ni celui de leur rôle exact (MAHOWALD, 1971 c).

En effet, si depuis HEGNER (1914) la majorité des auteurs (revue dans ANDERSON, 1972) attribue le rôle de déterminant germinal aux granules polaires, ce rôle revient au cytoplasme polaire lui-même d'après HUETTNER (1923). WIEMANN (1910) et GATENBY (1918) ont soutenu pour leur part que ces granules n'avaient qu'un rôle nutritif. Ce point de vue n'est pas admis en règle générale, mais, selon AGRELL (1964), une question fondamentale reste sans réponse : les granules polaires jouent-ils un rôle essentiel dans la détermination des cellules polaires ou bien ne

sont-ils que les témoins d'un métabolisme particulier du cytoplasme polaire?

GEYER-DUSZYNSKA (1959) montre, chez Miastor, que les noyaux qui pénètrent dans l'oosome ne sont pas soumis à la réduction chromatique : ils reçoivent en quelque sorte une protection et conservent toutes les potentialités génétiques de l'espèce. Les expériences de déplacement des granules polaires par centrifugation, réalisées par GEYER- DUSZYNSKA (1959) et JAZDOWSKA-ZAGRODINSKA (1966) montrent que le cytoplasme polaire est nécessaire mais qu'il n'est certainement pas suffisant.

Il est établi qu'après la formation du blastoderme, seules les cellules polaires pourvues des granules de l'oosome, sont à l'origine de la lignée germinale (HEGNER, 1914 - GEIGY, 1931 - ABOIM, 1945). Un phénomène identique est connu chez les Amphibiens (revue dans GALLIEN, 1972) où le "cytoplasme germinal", situé au pôle végétatif de l'oeuf, produit un effet qualitatif sur les noyaux qui l'envahissent : les blastomères contenant le "cytoplasme germinal" sont de la même manière à l'origine des cellules germinales. WILLIAMS et SMITH (1971) précisent que ce cytoplasme, examiné au microscope électronique, est caractérisé par des granules spécifiques, denses aux électrons, et une grande abondance de mitochondries. La situation est donc identique à celle des Insectes (revue dans MAHOWALD, 1972).

Dans les expériences d'irradiation ultra-violette du pôle postérieur de l'oeuf de Drosophila (GEIGY, 1931 - ABOIM, 1945 - JURA, 1965), l'absence de la lignée germinale n'a pas pu être reliée de façon formelle à la destruction des granules polaires. Chez les Amphibiens (GALLIEN, 1972), il nous semble que le résultat est identique : l'absence de la lignée germinale est due à la destruction du cytoplasme polaire et non spécifiquement à celle des granules.

Pour de nombreux auteurs, l'action spécifique du déterminant germinal des Insectes serait due à la présence de ribonucléoprotéines : MULNARD (1954), BHUYAN et SHAFIQ (1959), JURA et al. (1958), COUNCE (1963). MAHOWALD (1968 b, 1971 b), constatant la présence d'ARN au niveau des granules polaires, puis sa disparition progressive lors de la formation du blastoderme, émet une hypothèse séduisante : le rôle des granules polaires, dans l'induction de la lignée germinale, serait dû à la présence de m ARN. Les conclusions de HAGET (1972) chez Leptinotarsa vont dans le même sens,

mais, pour nous, l'extrême radiorésistance du déterminant germinal de cet insecte est incompatible avec cette hypothèse, malgré l'absence d'une absorption spécifique de l'énergie des rayons X par les nucléoprotéines (contrairement au cas des rayons U.V.).

HUTCHINSON et POLLARD (1961)et OKADA (1970) admettent qu'en règle générale, la radiosensibilité d'une molécule biologique est inversement proportionnelle à son poids moléculaire. Une très grande radiorésistance est donc incompatible avec certaines structures hypothétiques : protéines de P.M. élevé. Selon OKADA (1970) et ERRERA (1957 et communication personnelle), le niveau de radiosensibilité des molécules d'ADN se situe entre 10^2 r et 10^4 r, celui des molécules d'ARN entre 10^3 et 10^5 r. Les seules structures biologiques compatibles avec le niveau de radiorésistance du déterminant germinal sont donc des structures de faible poids moléculaire, des enzymes par exemple, si l'on admet l'hypothèse d'une structure protéinique.

HUTCHINSON (1963), dans une revue synthétique de la radiosensibilité des enzymes au sein des cellules vivantes, indique que leur D_{37} (dose léthale pour 63 molécules sur 100 molécules irradiées) varie entre $1,3.10^6$ r pour l'alcool déshydrogénase et 16.10^6 r pour la succinique déshydrogénase. Il faut noter, sans y voir une preuve pour autant, que deux travaux (TAWFIK, 1957 - BHUYAN et SHAFIQ, 1959) signalent, au niveau du cytoplasme polaire postérieur de Musca, une importante activité de la phosphatase alcaline.

D'autres arguments appuient les réserves que nous formulons au sujet du rôle des granules polaires. Les expériences de GOLDMAN et SETLOW (1956) chez Drosophila, et celles de VON BORSTEL (1957) chez Habrobacon montrent que le déterminant cytoplasmique existant dans ces oeufs est détruit avec plus d'efficacité par les U.V. absorbés spécifiquement par les protéines plutôt que par ceux absorbés par les acides nucléiques. MENG (1970) montre, d'autre part, que des protéines sont synthétisées au niveau de l'oosome chez Pimpla pendant l'ovogenèse mais qu'il n'y a pas synthèse d'ARN. De plus, à la suite d'expérience de greffes nucléaires pratiquées chez les Amphibiens, ARMS (1968) et MERRIAM (1969) ont démontré que le contrôle cytoplasmique de l'activité nucléaire est lié au passage de protéines cytoplasmiques dans le noyau. Ne pourrait-on

expliquer, par un mécanisme de contrôle du même type, l'influence exercée par le cytoplasme polaire postérieur sur les noyaux de segmentation qui pénètrent en son sein ?

10.2 Evolution de la radiosensibilité au cours de l'embryogenèse.

Ayant montré que des informations situées au sein du cytoplasme ne peuvent pas être détruites par l'exposition à un rayonnement ionisant, nous attribuons l'échec de l'embryogenèse, consécutif à une irradiation modérée, à des lésions nucléaires. La plupart des auteurs (revue dans OKADA, 1970) s'accordent pour considérer qu'après des doses de l'ordre de 10^3 r, les conséquences d'une irradiation sont essentiellement des lésions au niveau de l'A.D.N. entraînant à la fois des troubles de la réplication et des troubles de la transcription.

L'étude de la radiosensibilité au cours de l'embryogenèse de Leptinotarsa nous permet d'affirmer que deux conclusions, généralement admises, sont trop schématiques :

- les premiers stades embryonnaires sont les plus radiosensibles ;
- la radiosensibilité diminue au fur et à mesure du déroulement de l'embryogenèse.

Notre travail montre que l'évolution de la radiosensibilité embryonnaire est complexe et qu'il faut distinguer dans l'embryogenèse :

- des phases caractérisées par un accroissement de la radiosensibilité ;
- des phases caractérisées par une diminution de la radiosensibilité.

10.2.1 Deux phases d'augmentation de la radiosensibilité.

La première d'entre elles correspond à la segmentation nucléaire intravitelline, la seconde à l'édification de la bandelette embryonnaire.

10.2.1.1 Le phénomène d'augmentation de la radiosensibilité au cours de la segmentation est sans doute un phénomène général, souvent négligé par les auteurs qui assimilent l'ensemble de la segmentation à un stade unique très sensible.

Chez les Diptères par exemple, les travaux de SCOTT (1934) chez Calliphora de PACKARD (1935), ULRICH (1953), AMMON (1964) et HILDRETH (1967) chez Drosophila indiquent l'existence de ce phénomène. Chez les Orthoptères, SERENO chez Gryllus (1960) et HEINIG chez Acheta (1967) mettent en évidence un accroissement de la radiosensibilité au cours de la segmentation, malgré des résultats contradictoires sur la valeur de la DL 50 (rayons X).

Par contre, selon SCHNEIDER-MINDER (1962, 1966) chez Drosophila et MURAKAMI et TEULADE (1969) chez Bombyx, la radiosensibilité n'augmente pas au cours de la segmentation mais varie durant chaque cycle mitotique : une même dose entraîne, selon le stade irradié, la mort de 20% ou de 80% des oeufs. Métaphase et anaphase constituent la période la plus radiosensible du cycle cellulaire ; par contre, la radiosensibilité est beaucoup plus faible entre deux mitoses. Selon MURAKAMI et TEULADE, la différence de radiosensibilité est liée à des possibilités de réparation beaucoup plus importantes pendant l'interphase. D'une façon générale, il est établi que la radiosensibilité cellulaire diminue au cours de la phase de synthèse de l'ADN : résultats de WURGLER et al (1963), MURAKAMI (1969) et MATTER (1970) chez les Insectes, de HAMILTON (1969) chez les Amphibiens, de TERASIMA et TOLMACH (1961), RUSSEL et MONTGOMERY (1965), PFEIFER et TOLMACH (1967), SINCLAIR (1968) chez les Mammifères.

Nous attribuons la réponse du type tout ou rien, obtenue après irradiation au cours de la segmentation nucléaire intravitelline, à cette variation cyclique de la radiosensibilité : à ce stade, en effet les noyaux de chaque oeuf constituent une population synchrone. La majorité des oeufs, irradiés dans une phase radiosensible, ne poursuivent pas leur développement au delà de la segmentation ; par contre, dans le cas des oeufs où l'embryogenèse se poursuit normalement et aboutit à des larves viables, nous pensons que l'irradiation est intervenue au cours de la phase la moins radiosensible d'un cycle cellulaire ; notre interprétation est étayée par la présence d'un épaulement de la courbe "effet-dose" qui indique l'existence de phénomènes de réparation dans la fraction la moins radiosensible des oeufs irradiés au début de la segmentation nucléaire intravitelline. (Figure 4-5)

Nous avons montré (chapitre 5) que la radiosensibilité est proportionnelle au nombre de noyaux intravitellins : tous les résultats de la radiobiologie moléculaire (revues dans KAPLAN, 1968 et OKADA, 1970) nous permettant de penser que l'ADN constitue l'essentiel de la cible après irradiation par une faible dose, l'accroissement de la radiosensibilité est lié à l'augmentation de la quantité d'ADN nucléaire : l'oeuf peut être considéré comme une cellule unique malgré la présence de plusieurs noyaux. Ce phénomène a peut-être un caractère général car, contrairement aux conclusions de nombreux auteurs (revue dans ALEXANDRE, 1967) qui considèrent le stade indivis comme le stade le plus radiosensible, URSPRUNG et al.(1968) chez deux Amphibiens, Rana et Xenopus, ont mis en évidence une augmentation de la radiosensibilité au cours de la segmentation comparable à celle que nous avons obtenu chez Leptinotarsa.

Nous avons montré que la fin de la segmentation nucléaire intravitelline est caractérisée par une fixation importante d'actinomycine D tritiée au niveau des noyaux embryonnaires (chapitre 9). Le blocage immédiat de l'embryogenèse par une irradiation supraléthale (chapitre 5) démontre qu'à ce stade l'émission d'informations est indispensable à la poursuite du développement. Ces deux faits soulignent que la transcription de l'ADN embryonnaire est déjà en cours. La période la plus radiosensible correspond donc à l'intervention des noyaux dans le contrôle des processus embryonnaires.

BERTZBACH (1960) fournit une explication tout à fait différente de l'action des rayons X au cours de l'embryogenèse d'Apis : l'arrêt du développement serait dû à la destruction du centre activateur par l'irradiation. Aucun autre résultat ne permet d'étayer cette conclusion et l'extrême radiorésistance des informations cytoplasmiques (chapitre 3) s'oppose fortement à cette interprétation.

10.2.1.2 La deuxième période caractérisée par un accroissement de la radiosensibilité va de pair, chez Leptinotarsa, avec l'édification de la bandelette embryonnaire (entre 24 h et 40 h à 25°C). Elle est suivie par une période très radiosensible assez longue (20% de la durée totale de l'embryogenèse) qui correspond à la différenciation des principales ébauches : seule l'étude de la mortalité larvaire permet de mettre sa durée en évidence (chapitre 7).

Nos résultats sont en accord avec ceux des auteurs cités dans l'introduction ; notons toutefois, que la deuxième période de radiosensibilité maximale est un peu plus précoce chez Calliphora (SCOTT, 1934), un peu plus tardive chez Melanoplus (EVANS, 1937). TEULADE (1968) considère que l'augmentation de la radiosensibilité, constatée au début de la différenciation de la bandelette de Bombyx mori, constitue la première variation de la radiosensibilité du germe. Cette conclusion n'est pas en réalité en contradiction avec la nôtre, car elle ne concerne l'embryogenèse qu'au delà de la segmentation.

Il nous semble bon de préciser que l'existence d'une phase radiosensible est souvent délicate à établir car l'étude des variations de la DL 50 se révèle insuffisante : chez Acheta (BLUZAT, 1964), chez Leptinotarsa (BLUZAT, 1971) et chez Tenebrio (BROWER, 1972) les variations de la DL 50 sont négligeables durant l'édification de la bandelette. Par contre l'étude de la Do (pente de la partie linéaire de la courbe effet-dose), celle du pourcentage d'éclosion après application d'une dose proche de la DL 100 et l'examen de la mortalité larvaire ne laissent aucun doute sur l'existence et l'importance d'une période de grande radiosensibilité, postérieure à l'édification du blastoderme et aux premiers mouvements cellulaires.

L'utilisation d'une dose élevée (5.10^3 r) montre qu'un blocage de l'embryogenèse survient au stade bandelette âgée de 40-42 heures à 25°C, aussi bien quand l'irradiation est subie au stade blastula âgée (24 heures à 25°C) qu'au stade très jeune bandelette (36 heures à 25°C). Ce résultat démontre qu'après une irradiation supraléthale, l'arrêt de l'embryogenèse ne se produit pas après un laps de temps donné mais à un stade précis ; l'embryogenèse ne peut donc se poursuivre au-delà sans l'intervention de nouvelles informations d'origine nucléaire (BONNER, 1965). Chez Chironomus, l'arrêt du développement des mutants dépourvus de nucléole se produit à un stade identique (BEERMANN, 1960). Le même phénomène se produit dans le cas de croisements léthaux réalisés chez les Amphibiens (BRIGGS et KING, 1959). Nous constatons que l'augmentation de la radiosensibilité au cours de la gastrulation coïncide avec l'augmentation de la synthèse des ARN ribosomiaux, démontrée à ce stade par plusieurs auteurs (discussion, chapitre 7), et avec une fixation plus importante d'actinomycine D au niveau des noyaux embryonnaires.

En conclusion, nous pensons que la grande radiosensibilité de la jeune bandelette est directement liée à l'intense activité morphogénétique des noyaux embryonnaires ; parallèlement nous attribuons la faible radiosensibilité observée au stade blastoderme à une réduction ou à l'absence de cette activité.

10.2.2 Deux phases de diminution de la radiosensibilité.

La première d'entre elles, située entre les deux périodes d'accroissement de la radiosensibilité, correspond à la segmentation superficielle. La seconde est constituée par toute la deuxième moitié de l'embryogenèse

10.2.2.1 A notre connaissance, un petit nombre de travaux seulement a mis en évidence un phénomène de diminution de la radiosensibilité au cours de la segmentation superficielle : SCOTT (1934) chez Calliphora, CLARK et MITCHELL (1952) chez Habrobracon, AMMON (1964) et HILDRETH (1967) chez Drosophila. Pour ces auteurs, la diminution de la radiosensibilité coïncide avec l'arrivée des noyaux de segmentation dans le périplasme et serait due, selon SCOTT, au ralentissement du rythme mitotique. Cette explication est admise d'une façon générale (O'BRIEN et WOLFE, 1964), mais notre travail montre que le phénomène se produit plus tôt : la radiosensibilité est plus faible dès le stade 1 000 noyaux ; sa diminution précède donc celle du rythme mitotique mise en évidence avec précision par MAISONHAUTE (1971). Par contre, il n'est pas impossible que la qualité du cytoplasme périphérique de l'oeuf permette le déroulement de phénomènes de réparation, inexistants ou très faibles au cours de la phase intravitelline de segmentation. Chez Bombyx mori, MURAKAMI (1969) a démontré, par exemple, que les différences de radiosensibilité observées d'une souche à l'autre étaient directement liées à la qualité du cytoplasme de l'oeuf.

Entre l'arrivée des noyaux au contact du périplasme et le stade blastula - déroulement de la segmentation superficielle - nous avons mis en évidence l'émission de trois vagues successives d'informations nécessaires à la poursuite de l'embryogenèse. Pendant cette période, la radiosensibilité et la fixation d'actinomycine D par l'ADN nucléaire diminuent. La diminution de la radiosensibilité se manifeste par la disparition de la mortalité précoce (avant l'édification de la bandelette)

au fur et à mesure que sont transcrites les informations nécessaires à la poursuite de l'embryogenèse jusqu'à ce stade. Ces résultats et ceux obtenus par SCHNEIDER-MINDER (1966) chez Drosophila, nous ont amené à concevoir le début de l'embryogenèse des Insectes selon le schéma suivant :

- seule la segmentation nucléaire intravitelline est entièrement sous le contrôle d'informations élaborées au cours de l'ovogenèse et situées au sein du cytoplasme ;

- la formation d'un blastoderme typique, puis les mouvement cellulaires qui aboutissent à la formation de la bandelette nécessitent l'intervention d'informations émises par les noyaux embryonnaires (ARN messagers probablement) : la transcription de l'ADN se produirait donc dès l'arrivée des noyaux au contact du périplasme, le caractère léthal d'une irradiation étant due à la production de m ARN aberrant (POLLARD, 1970) .

Cette interprétation est-elle compatible avec les mécanismes actuellement connus ? CHEN (1971) considère que, chez les Insectes, la synthèse des ARN messagers débute en général plus tardivement (blastoderme), mais HANSEN- DELKESKAMP (1967, 1968 et 1969) indique son existence dès l'arrivée des noyaux de segmentation dans le périplasme de l'oeuf d'Acheta domesticus et COUNCE (1972) souligne que des interventions très diverses provoquent un arrêt du développement embryonnaire à la fin de la segmentation intravitelline ("mid-cleavage"). Chez les Amphibiens, l'arrêt de l'embryogenèse en fin de segmentation, provoqué par une irradiation très précoce, est dû, selon ALEXANDRE (1970), essentiellement à l'inhibition des synthèses de m ARN . GURDON et WOODLAND (1969) précisent que la synthèse d'ARN hétérogène débute avant la fin de la période de segmentation. Chez le Poisson Misgurnus fossilis, NEYFAKH et ROTT (1968) et KAFIANI (1969, 1970) montrent que la synthèse d'ARN messagers débute, là aussi, avant la fin du stade blastula et que son augmentation est plus rapide que celle du nombre des noyaux.

Nous pensons que le schéma généralement admis chez les Echinodermes, les Amphibiens et les Poissons (revue dans BRACHET, 1970 - BRACHET et MALPOIX, 1971 et NEYFAKH, 1971) est aussi valable chez les Insectes : la synthèse d'ARN messagers, nulle au début de la segmentation, débute avant la gastrulation et s'avère indispensable à son déroulement. Chez Leptinotarsa ce phénomène coïnciderait avec la fin de la synchronie des mitoses de segmentation.

10.2.2.2 Après la métamérisation et la différenciation de la bandelette, deuxième période très radiosensible, la radiorésistance embryonnaire, mesurée par les possibilités d'éclosion, s'accroît très rapidement. L'existence de ce phénomène, soulignée dans de nombreux travaux (revue dans O'BRIEN et WOLFE, 1964), doit être assortie d'une remarque importante, souvent négligée : les larves obtenues ne sont pas viables. A notre avis le critère "éclosion" perd sa valeur à la fin de l'embryogenèse car l'augmentation des doses léthales est due essentiellement à la nécessité d'obtenir la mort d'un organisme dans un délai de plus en plus bref.

Depuis les travaux de JOLY et BIELLMAN (1958) chez Locusta et ceux de BALDWIN et SALTHOUSE (1959 a et b) chez Rhodnius, il est établi que la mortalité larvaire après irradiation modérée est directement liée, chez les Insectes, au phénomène de mue. Si la mortalité larvaire est utilisée comme critère de mesure de la radiosensibilité, nous constatons, chez Leptinotarsa, que la radiosensibilité des embryons âgés de 3 jours 1/2 à 25°C ou plus, est du même ordre que celle des stades larvaires : la DL 50 se situe autour de 10^3r ; après application d'une dose de 2.10^3r aucun imago ne peut être obtenu (CAVALLORO et CIRIO, 1967 - BLUZAT, 1970).

Nous avons noté, chez Leptinotarsa, l'absence du regain de radiosensibilité mis en évidence chez Acheta domesticus (BLUZAT, 1964) entre la fermeture dorsale de l'embryon et l'éclosion. L'existence d'une mue embryonnaire chez le grillon est sans aucun doute à l'origine de la différence observée entre les deux espèces.

Notre travail montre que l'embryogenèse des Insectes, malgré des caractères très originaux, n'est pas fondamentalement différente de celle des autres groupes zoologiques : chaque grande étape postérieure à la segmentation (constitution d'un blastoderme, édification d'une bandelette, métamérisation et organogenèse) est précédée de l'émission d'informations d'origine nucléaire. Nos résultats sont en accord avec l'hypothèse émise par NEYFAKH (1964) : les phases d'intense activité morphogénétique nucléaire constituent les phases les plus radiosensibles de l'embryogenèse. Nous pensons que ce phénomène est lié aux possibilités de réparation des radiolésions de l'ADN, possibilités d'autant plus faibles que le temps écoulé entre l'irradiation et la transcription est court.

Planches 1 à 10

PLANCHE N° 1

Aspect des gonades chez les larves du premier stade :

(1) et (2) : testicule (1) et ovaire (2) de larves fixées aussitôt l'éclosion ;

(3) : ovaire d'une larve L_1, âgée de 2 jours à 25°C, montrant la structure typique : faisceau d'ovarioles ;

(4) : position de la gonade, en avant du proctodeum ;

(5) : aspect typique des gonies : énorme noyau peu colorable entouré d'un cytoplasme peu épais mais très basophile ; l'une des ovogonies montre une figure de mitose : télophase ;

(6) et (7) : gonades "vides" ou "mésodermiques"

- d'aspect ♀ (6) : témoin (2),
- d'aspect ♂ (7) : témoin (1).

PLANCHE N° 2

Irradiation localisée du cytoplasme polaire postérieur :

(1) et (2) : isolement du cytoplasme polaire après application d'une dose de 10^7 roentgens (fixation 6 heures à 25° C après l'irradiation) ;

(3) : formation du blastoderme à la limite de la zone non irradiée (dose : 10^7 roentgens ; fixation 20 heures à 25° C après l'irradiation) ;

(4) : formation du blastoderme et des cellules polaires postérieures malgré l'application d'une dose de 10^6 roentgens.

PLANCHE N° 3

Irradiation localisée des cellules polaires postérieures :

(1): blastoderme au stade blastula à 8 000 noyaux, montrant l'émission d'un vitellophage secondaire ;

(2): irradiation du pôle postérieur de l'oeuf au stade blastula à 8 000 noyaux (dose : 10^4 roentgens) : la région irradiée a le même aspect qu'à la suite d'une brûlure par thermocautère ;

(3): préblastoderme au stade blastula à 4 000 noyaux ;

(4): blastoderme au stade blastula à 16 000 noyaux.

PLANCHE N° 4

Segmentation anormale consécutive à une forte irradiation (5.10^3 rads) intervenue au cours des 3 premiers cycles mitotiques :

notons :

- l'absence de blastoderme (1) et (3),
- l'existence d'îlots cytoplasmiques périphériques (1) et (3) ou intravitellins (1) et (4),
- l'aspect anormal des noyaux (2), (3) et (4).

PLANCHE N° 5

Phénomène de gastrulation aberrante au niveau du pôle postérieur de l'oeuf :

(1), (2) et (3) : montage in toto après une dose de 5.10^3 rads appliquée au stade blastula âgée de 18 heures à 25° C ;

(4) témoin : bandelette âgée de 42 heures à 25° C.

PLANCHE N° 6

Phénomène de gastrulation aberrante, au niveau du pôle postérieur de l'oeuf :

après une dose de 5.10^3 rads appliquée au stade blastula âgée de 18 heures à 25° C, les coupes histologiques montrent qu'il se produit un début d'organisation (1), (2) et (3), sans constitution d'une bandelette ; 24 heures plus tard la dégénérescence intervient.

PLANCHE N 7

Bandelettes anormales :

(1) : bandelette anormale obtenue par l'irradiation d'une blastula âgée de 20 heures à 25° C après application d'une dose de 5.10^3 rads ; (4) : bandelette témoin de même âge ;

(2) et (3) : blocage immédiat de l'embryogénèse et dégénérescence rapide consécutifs à l'irradiation d'une bandelette âgée de 1 jour 1/2 à 25° C ; fixation : 24 heures à 17°, 5 C (2) et 24 heures à 25° C (3) après application d'une dose de 5.10^3 rads ;

(4) : témoin correspondant à (1) et (2).

PLANCHE N° 8

Blocage différé de l'embryogénèse consécutif à l'irradiation d'une bandelette (1) âgée de 2 jours à 25° C après application d'une dose de 5.10^3 rads :

(2) et (3) : fixation 24 heures à 17°, 5 C après l'irradiation ; l'évolution de la bandelette s'est poursuivie après l'irradiation ;

(4) ; fixation 24 heures à 25° C après l'irradiation ; la dégénérescence débute seulement.

PLANCHE N°9

Blocage différé de l'embryogénèse consécutif à l'irradiation d'une bandelette âgée de 2 jours 1/2 à 25° C après application d'une dose de 5.10^3 rads :

(1) : fixation 24 heures à 17°, 5 C après l'irradiation, poursuite de l'embryogénèse ;

(2) : fixation 24 heures à 25° C après l'irradiation ; l'embryon est contracté et plus ou moins séparé du vitellus ; le proctodeum est visible en face ventrale contrairement aux témoins ;

(3) et (4) : embryons témoins âgés de 3 jours à 25° C.

PLANCHE N° 10

Coupes histologiques montrant la désorganisation d'une bandelette embryonnaire âgée de 2 jours à 25°C après application d'une dose de 5.10^3 rads :

(1), (2) et (3) : fixation 24 heures à 25° C après l'irradiation ;

(1) et (2) : partie antérieure d'une bandelette irradiée,

(3) : partie postérieure d'une bandelette irradiée ;

(4) : bandelette témoin âgée de 2 jours à 25° C.

B I B L I O G R A P H I E

ABOIM A.N. - 1945 - Développement embryonnaire et postembryonnaire des gonades normales et agamétiques de Drosophila melanogaster.
Rev. suisse Zool., 52, pp. 53-154.

AGRELL I. - 1964 - Physiological and biochemical changes during insect develop--ment. in :
The Physiology of Insecta (ROCKSTEIN), chap. 4, pp. 91-148, Academic Press, N.Y.

ALEXANDRE H. - 1967 - Effets des rayons X sur le développement des jeunes embryons de Pleurodeles waltlii, sur le DNA cytoplasmique et sur les biosynthèses au cours de la segmentation.
Acad. r. Belg., Bull. Cl. Sci., 53, pp. 1088-1105.

- 1970 - Etude autoradiographique de l'effet des rayons X sur les synthèses de DNA et de RNA au cours de la segmentation et de la gastru--lation de Pleurodeles waltlii Michah.
Archiv. Biol., 81, pp. 139-162.

ALLEAUME N. & HAGET A. - 1961 - Développement de "gonades mésodermiques" après microcautérisation des initiales germinales au stade blastule chez Calliphora erythrocephala M.
P.V. Soc. Sci. phys. nat. Bordeaux, 1961-1962, pp. 91-96.

ALPER T., GILLIES N.E. & ELKIND M.M. - 1960 - The sigmoid survival curve in radiobiology.
Nature, G.B., 186, pp. 1062-1063.

ALPER T., FOWLER J.F., MORGAN R.L., VON BERG D.D., EILLIS F. & OLIVER R. - 1962 - The characterisation of the type C survival curve.
Brit. J. Radiol., 35, p. 722.

AMMON J. - 1964 - Zur Frage der Wirkungsweisse einer radonhaltigen Atmosphare auf embryonale Stadien von Drosophila melanogaster.
Biophysik., 2, pp. 29-41.

AMY R.L. - 1955 - A comparative study of the effects of -rays, -rays and X-rays on development in Habrobracon.
Rad. Res., 3, pp. 166-181.

ANDERSON D.T. - 1966 - The comparative embryology of the Diptera.
Annu. Rev. Entomol., 11, pp. 23-46.

- 1972 - The development of holometabolous Insects. in :
Developmental Systems : Insects (COUNCE & WADDINGTON), Vol. 1, pp. 165-242, Academic Press, N.Y.

ARMS K. - 1968 - Cytonucleoproteins in cleaving eggs of Xenopus laevis.
J. Embryol. exper. Morphol., 20, pp. 367-374.

BALDWIN W.F. & SALTHOUSE T.N. - 1959a - Latent radiation damage and synchronous cell division in the epidermis of an insect.
-I- Non reversible effects leading to local radiation burns.
Rad. Res., 10, pp. 387-396.

BALDWIN W.F. & SALTHOUSE T.N. - 1959 -
-II- Reversible effects in burn repair.
Rad. Res., 10, pp. 397-399.

BEERMANN W. - 1960 - Der Nukleolus als Lebenswichtiger Bestandteil des Zellkern
Chromosoma, 11, pp. 263-296.

BERLOWITZ L., PALLOTA D.J. & SIBLEY C. - 1968 - On the uptake of ^{3}H-actino-
-mycin D into condensed and diffuse chromatin in mealybugs.
J. Cell Biol., 39, pp. 13a-14a.

BERTZBACH R. - 1960 - Experimentelle Untersuchungen über den Einfluss von
Röntgenstrahlen auf die Embryonalentwicklung der Honigbienne.
Wilhelm Roux' Archiv., 152, pp. 524-551.

BHUIYAN N.I. & SHAFIQ S.A. - 1959 - The differentiation of the posterior pole
plasm in the house fly Musca vicina M.
Exper. Cell Res., 16, pp. 427-429.

BLUZAT R. - 1964 - Influence des rayons X au cours de l'embryogenèse de Gryllus
domesticus L. (Orthoptère).
Bull. Soc. zool. Fr., 89, pp. 478-495.

- 1967 - Mise en évidence de la radiorésistance du déterminant
germinal chez Leptinotarsa decemlineata Say.
C.R. Acad. Sci.,D, Fr., 265, pp. 2027-2029.

- 1968 - Destruction des cellules polaires de l'oeuf du Doryphore
par irradiation. in :
Isotopes and Radiation in Entomology, FAO-IAEA Symposium, pp. 103-108,
FAO-IAEA,Vienne.

- 1970 - Gamma irradiation of larval instars of the Colorado beetle,
Leptinotarsa decemlineata Say. in :
Radiation techniques and their application to insect pests, Information
circular, 11, p. 10, FAO-IAEA, Vienne.

- 1971 - Evolution de la radiosensibilité au cours de l'embryogenèse
du Doryphore (Leptinotarsa decemlineata Say).
C.R. Acad. Sci.,D, Fr., 272, pp. 1542-1545.

- 1972 - Possibilités d'élevage des larves du Doryphore après
irradiation des oeufs. in :
Radiation techniques and their application to insect pests, Information
circular, 14, p. 13, FAO-IAEA, Vienne.

BONNER J. - 1965 - The molecular biology of development. 155 p.
Oxford University, Clarendon Press, Oxford.

BRACHET J. - 1970 - Quelques problèmes actuels en embryologie moléculaire.
Ann. biol., 9, pp. 619-669.

BRACHET J. & FICQ A. - 1964 - Détection cytochimique, au moyen d'actinomycine
radioactive, du DNA cytoplasmique des oeufs de Batraciens.
C.R. Acad. Sci.,D, Fr., 258, pp. 6258-6260.

- 1965 - Binding sites of ^{14}C-actinomycin in amphibian
ovocytes and an autoradiography technique for the detection of cyto-
-plasmic DNA.
Exper. Cell Res., 38, pp. 153-159.

BRACHET J. & PREUMONT A.M. - 1966 - Nouvelles techniques de détection des acides désoxyribonucléiques : quelques résultats préliminaires.
Ann. Histochim., 11, pp. 157-171.

BRACHET J. & HULIN N. - 1969a - Binding of tritiated actinomycin and cell differentiation.
Nature, G.B., 222, pp. 481-482.

- 1969b - Actinomycin binding in differentiating and dividing cells.
Exper. Cell Res., 59, pp. 486-488.

BRACHET J. & MALPOIX P. - 1971 - Macromolecular syntheses and nucleocyto-plasmic interactions in early development.
Adv. Morphog., 9, pp. 263-316.

BRIGGS R. & KING T.J. - 1959 - Nucleocytoplasmic interactions in eggs and embryos. in :
The Cell (BRACHET & MIRSKY), I, pp. 538-617, Academic Press, N.Y.

BROWER J.H. - 1972 - Combined effects of egg age and radiation dosage on egg hatch of Tenebrio molitor (Coleoptera, Tenebrionidae).
Canad. Entomol., 104, pp. 141-144.

CAVALLORO R. & CIRIO U. - 1967 - Ricerche con radiazoni ionizzanti sulla sterilizzazione e radiosensibilita di Chrysomela decemlineata Say.
Redia, 50, pp. 365-377.

CHEN P.S. - 1971 - Biochemical aspects of Insect development.
Chap. I, pp. 3-31, S. Karger, Bâle.

CLARK A.M. & MITCHELL C.J. - 1952 - Effects of X-rays upon haploid and diploid embryos of Habrobracon.
Biol. Bull., 103, pp. 170-177.

COLE A., HUMPHREY R.M. & DEWEY W.C. - 1963 - Low-voltage electron beam irradiation of normal and 5-bromouridine deoxyriboside-treated L-P59 mouse fibroblast cells in vitro.
Nature, G.B., 199, pp. 780-782.

COLOMBO G. - 1959 - Differente sensibilita di raggi X in rapporto agli stadi dviluppo di embryoni Locusta migratoria migratorioides.
Atti Accad. nazion. Lincei, R.C. Cl. Sci. fis. mat. nat., 26, pp. 583-591.

COUNCE S.J. - 1963 - Developmental morphology of polar granules in Drosophila.
J. Morphol., 112, pp. 129-145.

- 1972 - The causal anlysis of insect embryogenesis. in :
Developmental Systems : Insects (COUNCE & WADDINGTON), Vol. 2, pp. 1-156, Academic Press, N.Y.

DURYEE W.R. - 1949 - The nature of radiation injury to amphibian cell nuclei.
J. Nat. Canc. Inst., 10, pp. 735-796.

ELKIND M.M. & SUTTON H. - 1959 - X-ray damage and recovery in mammalian cells in culture.
Nature, G.B., 184, pp. 1293-1295.

ELLINGER F.P. - 1957 - Medical Radiation Biology. 945 p.
Thomas, Springfield, Illinois, USA.

ERRERA M. - 1957 - Effets biologiques des radiations. Aspects biochimiques. in
Protoplasmatologia, Band X, 3, 241 p., Springer-Verlag, Vienne.

EUDY W.W. - 1969 - Development studies on eggs of the black blow-fly.
Thesis, North Carolina State University, 129 p.

EUDY W.W. & DOBROGOSZ W.J. - 1970 - Ribonucleic acid and enzyme synthesis in developing Phormia regina embryos.
Comp. Biochem. Physiol., 35, pp. 567-576.

EVANS T.C. - 1935 - Variations in susceptibility to X-rays of Melanoplus differentialis during development.
Physiol. Zool., 8, pp. 521-529.

- 1936 - Qualitative and quantitative changes in radiosensitivity of grasshopper eggs during early development.
Physiol. Zool., 9, pp. 443-454.

- 1937 - Effects of roentgen radiation on embryonic organisation and regulation in Melanoplus differentialis.
Physiol. Zool., 10, pp. 259-269.

FICQ A. - 1959 - Autoradiography. in :
The Cell (BRACHET & MIRSKY), I, pp. 67-90, Academic Press, N.Y.

- 1961 - Contribution à l'étude du métabolisme cellulaire au moyen de la méthode autoradiographique.
Inst. interuniv. Sci. nucl., Bruxelles, Monographie n°9, 121 p.

GALLIEN L. - 1972 - Aspects des relations nucléo-cytoplasmiques dans l'ontogenèse des Amphibiens.
Bull. Soc. zool. Fr., 97, pp. 233-263.

GATENBY J.B. - 1918 - The segregation of the germ cells in Trichogramma evanescens.
Quart. J. Microsc. Sci., 63, pp. 161-173.

GEIGY R. - 1931 - Action de l'U.V. sur le pôle germinal dans l'oeuf de Drosophi (castration et mutabilité).
Rev. suisse Zool., 38, 187-288.

GEYER-DUSZYNSKA I. - 1959 - Experimental research on chromosome elimination in Cecidomyiidae (Diptera).
J. Exper. Zool., 141, pp. 391-448.

GILL K.S. - 1963 - Developmental genetic studies on oogenesis in Drosophila melanogaster.
J. Exper. Zool., 152, pp. 251-278.

GOLDMAN A.S. & SETLOW R.B. - 1956 - The effects of monochromatic ultraviolet light on th egg of Drosophila.
Exper. Cell Res., 11, 146-159.

GURDON J.B. & WOODLAND H.R. - 1969 - The influence of the cytoplasm on the nucleus during cell differentiation, with special reference to RNA

synthesis during amphibian cleavage.
Proc. r. Soc. London, B, 173, pp. 99-111.

HAGET A. - 1953a - Analyse expérimentale des conditions d'édification d'une gonade embryonnaire chez le Coléoptère Leptinotarsa.
C.R. Soc. Biol., 147, pp. 673-675.

- 1953b - Analyse expérimentale des facteurs de la morphogenèse embryonnaire chez le Coléoptère Leptinotarsa.
Bull. biol. Fr. Belg., 87, pp. 123-217.

- 1972 - Caractéristiques ultrastructurales du pôle postérieur et de l'oosome, dans l'œuf jeune du Coléoptère Leptinotarsa decemlineata Say.
C.R. Acad. Sci., D, Fr., 275, pp. 2737-2740.

HAMILTON L. - 1969 - Changes in survival after X-irradiation of Xenopus embryos at different phases of the cell cycle.
Rad. Res., 37, pp. 173-180.

HANSEN- DELKESKAMP E. - 1968 - Synthese ribosomaler RNS in normalen und embryolosen Keimen von Acheta domestica L.
Wilhelm Roux' Archiv., 161, pp. 23-29.

- 1969 - Synthese von RNS und Protein während der Oogenese und frühen Embryogenese von Acheta domesticus L.
Wilhelm Roux' Archiv., 162, pp. 114-121.

HANSEN-DELKESKAMP E., SAUER H.W. & DUSPIVA F. - 1967 - Ribonucleinsäuren in der Embryogenese von Acheta domesticus L.
Z. Naturforsch., 226, pp. 540-547.

HARBERS E., MULLER W. & BACKMANN R. - 1963 - Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus der Actinomycine.
-II- Versuche mit ^{14}C-Actinomycine an Ehrlich-Ascitestumorzellen in vitro.
Biochem. Z., 337, pp. 224-231.

HARRIS S.E. & FORREST H.S. - 1967 - RNA and DNA synthesis in developing eggs of the Milkweed Bug, Oncopeltus fasciatus Dallas.
Science, 156, pp. 1613-1615.

HATHAWAY D.S. & SELMAN G.G. - 1961 - Certain aspects of cell lineage and morphogenesis studied in embryos of Drosophila melanogaster with an ultraviolet micro-beam.
J. Embryol. exper. Morphol., 9, pp. 310-325.

HEGNER R.W. - 1908 - Effects of removing the germ-cell determinants from the eggs of some chrysomelid beetles.
Biol. Bull., 16, pp. 19-26.

- 1909 - The origin and early history of the germ cells in some chrysomelid beetles.
J. Morphol., 20, pp. 231-296.

- 1911 - Germ cell determinants and their significance.
Amer. Naturalist, 45, pp. 385-397.

- 1914 - Studies on germ cells.
J. Morphol., 25, pp. 375-509.

HEINIG S. - 1967 - Die Abänderung embryonaler Differenzierungs-prozesse durch totale Röntgenbestrahlung im Ei von Gryllus domesticus.
Zool. Jb. (Anat.), 84, pp. 425-492.

HENSHAW P.S. & HENSHAW C.T. - 1933 - Changes in susceptibility of Drosophila eggs to X-rays.
-I- A correlation of changes in radiosensitivity with stages in development.
Radiology, 21, pp. 239-248.

HENSHAW P.S. - 1935 -
-II- Correlation of biological activity and radiosensitivity.
Radiology, 24, pp. 438-443.

HILDRETH P.E. - 1967 - Developmental effects of X-rays on embryos of Drosophila melanogaster.
Proc. nat. Acad. Sci. U.S., 58, pp. 1924-1929.

HUETTNER A. - 1923 - The origin of the germ cells in Drosophila melanogaster.
J. Morphol., 37, pp. 385-423.

HUTCHINSON F. & POLLARD E. - 1961 - Target theory and radiation effects on biological molecules. in :
Mechanisms in Radiobiology (ERRERA & FORSSBERG), Vol. 1, pp. 71-92, Academic Press, N.Y.

HUTCHINSON F. - 1963 - Effects of ionizing radiations on molecules in cells. i
Actions chimiques et biologiques des radiations (HAISSINSKY), 6e Série, p. 105-146, Masson & Cie, Paris.

IDRIS B.E.M. - 1960 - Die Entwicklung im normalen Ei von Culex pipiens L.
Z. Morphol. Tiere, 49, pp. 387-429.

JAZDOWSKA-ZAGRODZINSKA B. - 1966 - Experimental studies on the role of "polar granules" in the segregation of pole cells in Drosophila melanogaster.
J. Embryol. exper. Morphol., 16, pp. 391-399.

JOLY P. & BIELLMANN G. - 1958 - Effets d'irradiations chez Locusta migratoria
C.R. Acad. Sci.,D,Fr., 247, pp. 243-246.

JURA C. - 1961 - The formation of new superficial plasma in the damaged eggs of Melasoma populi L.
Acta biol. cracov., Zool., 4, pp. 111-124.

- 1964a - Cytological and experimental observations on the origin and fate of the pole cells in Drosophila virilus Sturt.
-I- Cytological analysis.
Acta biol. cracov., Zool., 7, pp. 59-73.

- 1964b -
-II- Experimental analysis.
Acta biol. cracov., Zool., 7, pp. 89-103.

JURA C., KRZYSZTOFOWICZ A. & WEGLARSKA B. - 1958 - Histochemical investiga-tions on the embryonic development of Melasoma populi L.
Zool. Polon., 9, pp. 3-15.

KAFIANI C.A. - 1970 - Genome transcription in fish development.
Adv. Morphog., 8, pp. 209-284.

KAFIANI C.A., TIMOFEEVA M.J., NEYFAKH A.A., MALNIKOVA N.L. & RACHKUS J. - 1969 - RNA synthesis in the aerly embryogebesis of a fish (Misgurnus fossilis). J. Embryol. exper. Morphol., 21, pp. 295-308.

KAPLAN H.S. - 1968 - Macromolecular basis of radiation-induced loss of viability in cells and viruses. in :
Actions Chimiques et Biologiques des Radiations (HAISSINSKY), série 12, pp. 71-94, Masson & Cie, Paris.

KUZIN A.M., PLYSHEVSKAYA E.G., KOPYLOV V.A., IVANITSKAYA E.A., LEBEDEVA N.E., KOLOMIJTSEVA I.K., TOKARSKAYA V.I. & MELNIKOVA S.K. - 1966 - On the role of the orthophenol-orthoquinone system in the initial effect of ionizing radiation on the organism.
Int. J. Rad. Biol., 10, pp. 1-15.

LABROUSSE M. - 1966 - Analyse des effets des rayonnements appliqués à l'oeuf sur les structures caryologiques et sur le développement embryonnaire de l'Amphibien Urodèle Pleurodeles waltlii Michah.
Bull. Soc. zool. Fr., 91, pp. 491-590.

LEA D.E. - 1956 - Actions of radiations in living cells. 416 p.
Cambridge University Press, Cambridge.

LOCKSHIN R.A. - 1966 - Insect embryogenesis : macromolecular syntheses during early development.
Science, 154, pp. 775-776.

MAHOWALD A. - 1962 - Fine structure of pole cells and polar granules in Drosophila melanogaster.
J. exper. Zool., 151, pp. 201-216.

- 1968a - Fine structure of polar granules in Miastor.
J. Cell Biol., 39, p. 84a.

- 1968b - Polar granules of Drosophila.
-II- Ultrastructural changes during early embryogenesis.
J. exper. Zool., 167, pp. 237-262.

- 1971a - -III- The continuity of polar granules during the life cycle of Drosophila.
J. exper. Zool., 176, pp. 329-344.

- 1971b - -IV- Cytochemical studies showing loss of RNA from polar granules during early stage of embryogenesis.
J. exper. Zool., 176, pp. 345-352.

- 1971c - Origin and continuity of polar granules. in :
Origin and continuity of cell organelles (REINERT & URSPRUNG), pp. 158-169, Springer-Verlag, N.Y. & Heidelberg.

- 1972 - Oogenesis. in :
Developmental Systems : Insects (COUNCE & WADDINGTON), Vol. 1, chap. 1, pp. 1-47, Academic Press, N.Y.

MAISONHAUTE C. - 1966 - Etude de l'activité mitotique des premiers stades embryonnaires chez le Doryphore. 27 p., 9 pl. h. t.
Diplôme d'Etudes Supérieures, Faculté des Sciences, Orsay.

- 1971 - Observations cytologiques et autoradiographiques sur les premiers stades embryonnaires du Doryphore (Leptinotarsa decemlineata Say).
C.R. Acad. Sci.,D, Fr., 272, pp. 1398-1401.

MATTER B.E. - 1970 - Zur Ursache der unterschiedlichen Strahlenempfindlichkeit verschiedener Kernteilungsstadien in der frühen Furchung von Drosophila melanogaster.
Mutation Res., 10, pp. 567-582.

MENG C. - 1968 - Strukturwandel und histochemische Befunde insbesondere am Oosom während der Oogenese und nach der Ablage des Eies von Pimpla turionella (Hymenoptera, Ichneumonidae).
Wilhelm Roux' Archiv., 161, pp. 162-208.

- 1970 - Autoradiographische Untersuchungen am Oosom in der Oocyte von Pimpla turionella L. (Hymenoptera).
Wilhelm Roux' Archiv., 165, pp. 35-52.

MERRIAM R.W. - 1969 - Movement of cytoplasmic proteins into nuclei induced to enlarge and initiate DNA or RNA synthesis.
J. Cell Sci., 5, pp. 333-349.

MULNARD J. - 1954 - Etude morphologique et cytochimique de l'oogenèse chez Acanthoscelides obtectus Say (Bruchidae, Coléoptère).
Archiv. Biol., 45, pp. 261-314.

MURAKAMI A. - 1969 - Comparison of radiosensitivity among different silkworm strains with respect to the killing effect on the embryos.
Mutation Res., 8, pp. 343-352.

MURAKAMI A. & TEULADE P. - 1969 - Variation of radiosensitivity in synchronized cell populations of silkworm embryos exposed to X-rays.
Int. J. Rad. Biol., 15, pp. 315-332.

NEYFAKH A.A. - 1964 - Radiation investigation of nucleo-cytoplasmic interre--lations in morphogenesis and biochemical differentiation.
Nature, G.B., 201, pp. 880-884.

- 1971 - Steps of realization of genetic information in early development. in :
Current Topics in Developmental Biology (MOSCONA & MONROY), 6, pp. 45-7
Academic Press, N.Y.

NEYFAKH A.A. & ROTT N.N. - 1968 - A quantitative approach to the detection of nuclear activity after differential damage to nucleus and cytoplasm in early development.
J. Embryol. exper. Morphol., 20, pp. 129-140.

NICKLAS R.B. - 1959 - An experimental and descriptive study of chromosome elimi--nation in Miastor spec. (Cecidomyiidae, Diptera).
Chromosoma, 10, pp. 301-336.

O'BRIEN R.D. & WOLFE L.S. - 1964 - Non genetic effects of radiation. in :
Radiation, Radioactivity and Insects (AISS), chap. 2, pp. 23-54,
Academic Press, N.Y.

OELHAFEN F. - 1961 - Zur Embryogenese von Culex pipiens. Markierungen und Exsti--pationen mit U.V.-Strahlenstich.
Wilhelm Roux' Arch., 153, pp. 120-157.

OKADA S. - 1970 - Cells. 366 p. in :
Radiation Biochemistry (ALTMAN, GERBER & OKADA), Vol. 1, Academic Press
N.Y.

OKADA S. & WADDINGTON C.H. - 1959 - The submicroscopic structure of Drosophila egg.
J. Embryol. exper. Morphol., 7, pp. 583-597.

PACKARD C. - 1926 - Killing of Drosophila eggs by X-rays.
J. Cancer Res., 10, p. 319.

- 1935 - The relation between age and radiosensitivity of Drosophila eggs.
Radiology, 25, pp. 223-230.

PATAY R. - 1939 - Contribution à l'étude d'un Coléoptère (Leptinotarsa decem--lineata Say). Evolution des organes au cours du développement.
Bull. Soc. sci. Bretagne, 16, pp. 1-145.

PETROVA J. - 1942 - Different effects of -rays on nucleus and cytoplasm.
Bot. Centr. Beih., A61, pp. 399-430.

PFEIFER J.E. & TOLMACH L.J. - 1967 - Selecting synchronous populations of mammalian cells.
Nature, G.B., 213, pp. 139-142.

POLIARD E.C. - 1970 - The effect of ionizing radiation on the molecular biology of Escherichia coli. in :
Current Topics in Radiation Research (EBERT & HOWARD), 6, pp. 51-127, North-Holland Publishing Company, Amsterdam.

POULSON D.F. & WATERHOUSE D.F. - 1960 - Experimental studies on pole cells and midgut differentiation in Diptera.
Austral. J. biol. Sci., 13, pp. 541-567.

REICH E., GOLDBERG I.H. & RABINOWITZ M. - 1962 - Structure-activity correla--tions of actinomycins and their derivatives.
Nature, G.B., 196, pp. 743-748.

RICHARD-MERCIER N. - 1972 - Embryogenèse et différenciation sexuelle de la gonade du Doryphore, Leptinotarsa decemlineata Say (Coléoptère, Chrysomélide).
Ann. Embryol. Morphogenèse, 5, pp. 191-201.

RINGERTZ N.R. & BOLUND L. - 1969 - Actinomycin binding capacity of deoxyribo--nucleoprotein.
Biochim. Biophys. Acta, 174, pp. 147-154.

ROGERS R.W. & VON BORSTEL R.C. - 1957 - Alpha-particle bombardment of the Habrobracon egg.
-I- Sensitivity of the nucleus.
Rad. Res., 7, pp. 484-490.

- 1958 -
-II- Response of the cytoplasm.
Rad. Res., 8, pp. 248-253.

RUSSEL L.B.& RUSSEL W.L. - 1954 - An analysis of the changing radiation res--ponse of the developing mouse embryo.
J. cell. comp. Physiol., 43, Suppl. 1, pp. 103-149.

RUSSEL L.B. & MONTGOMERY C.S. - 1965 - Radiation-sensitivity differences within cell-division cycles during mouse cleavage.
Int. J. Rad. Biol., 10, pp. 151-164.

SCHNEIDER-MINDER - 1962 - Cytologische Untersuchungen zur Deutung der unter--schiedlichen Strahlenempfindlichkeit verschieden alter Drosophila-Eie
Arch. Julius Klaus-Stiftung, Schweiz, 37, pp. 38-43.

- 1966 - Cytologische Untersuchung der Embryonalentwicklung von Drosophila melanogaster nach Röntgenbestrahlung in frühen Entwick--lungsstadien.
Int. J. Rad. Biol., 11, pp. 1-20.

SCHNETTER W. - 1970 - Ribonucleinsäuren in der Embryonalentwicklung von Leptinotarsa decemlineata (Coleoptera).
Zool. Anz., Suppl. 33, pp. 108-112.

SCHWALM F.E. - 1965 - Zell und Mitosen muster der normalen und nach Röntgenbes--trahlung regulierenden Keimanalge von Gryllus domesticus.
Z. Morphrl. Tiere, 55, pp. 915-1023.

SCHWALM F.E., SIMPSON R. & BENDER H.A. - 1971 - Early development of the kelp fly, Coelopa frigida (Diptera) : ultrastructural changes within th polar granules during pole cell formation.
Wilhelm Roux' Archv., 166, pp. 205-218.

SCHWARTZ D. - 1963 - Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes. 290 p.
Flammarion, Paris.

SCOTT C.M. - 1934 - Action of X-rays on eggs of Calliphora.
Proc. r. Soc. London,B, 115, pp. 100-119.

SEIDEL F. - 1926 - Die Determinierung der Keimanlage bei Insekten.
Biol. Zentralbl., 46, pp. 321-343.

- 1929 - Untersuchungen über das Bildungsprinzip der Keimanlage im Ei der Libelle Platycnemis pennipes. I-V.
Wilhelm Roux' Archiv., 119, pp. 322-440.

- 1936 - Entwicklungsphysiologie des Insekten-Keims.
Zool. Anz., Suppl. 9, pp. 291-336.

SERENO C. - 1960 - Mise en évidence de stades radiosensibles au cours du déve--loppement de Gryllus bimaculatus.
C.R. Acad. Sci.,D, Fr., 251, pp. 2430-2432.

SINCLAIR W.K. - 1968 - Cyclic X-ray responses in Mammalian cells in vitro.
Rad. Res., 33, pp. 620-643.

STEINERT S. & VAN GANSEN P. - 1971 - Binding of ^{3}H- actinomycin to vitelline platelets of amphibian oocytes. A high resolution of autoradiographic investigation.
Exper. Cell Res., 64, pp. 335-365.

STRUNNIKOV V.A. - 1960 - The relative effect of primary radiation damage to the nucleus and cytoplasm of the germ cells of Bombyx.
Cytologija, SSSR, 2, pp. 573-580.

TAWFIK M.F.S. - 1957 - Alkaline phosphatase in the germ-cell determinant of the egg of Apanteles.
J. Insect Physiol., 1, pp. 286-291.

TERASIMA T. & TOLMACH L.J. - 1961 - Changes in X-ray sensitivity of He La cells during the division cycle.
Nature, G.B., 190, 1210-1211.

TEULADE P. - 1968 - Etude expérimentale et théorique de la radiosensibilité embryonnaire du ver à soie (Bombyx mori).
Thèse de Doctorat d'Etat, Université de Lyon. 119 p.

ULLMAN S.L. - 1965 - Epsilon granules in Drosophila pole cells and oocytes.
J. Embryol. exper. Morphol., 13, pp. 73-81.

ULRICH H. - 1953 - Single event in killing of Drosophila eggs by X-rays.
D.I.S., 27, pp. 117-118.

- 1954 - Difference in radiosensitivity of nucleus and cytoplasm of Drosophila eggs.
D.I.S., 28, pp. 164-165.

- 1955a - Die Bedeutung von Kern und Plasma bei der Abdötung des Drosophila-Eies durch Röntgenstrahlen.
Naturw., 42, p. 468.

- 1955b - Comparative studies on the lethal action of X-rays on nucleus and cytoplasm of Drosophila eggs before cleavage.
D.I.S., 29, pp. 170-171.

- 1958 - The mutagenic action of X-rays on uncleaved Drosophila eggs and its dependence upon oxygene.
Proceedings of the 10th International Congress on Genetics, Montreal, 1958, University of Toronto Press, Vol. 2, pp. 298-299.

ULRICH H. & WÜRGLER F.E. - 1963 - Genetische und nichtgenetische Strahlen Effekte in Drosophila-Eiern.
Zool. Anz., Suppl. 27, pp. 602-606.

URSPRUNG H., LEONE J. & STEIN L. - 1968 - Blastular arrest and chromosome abnormalities produced by X-rays in two Amphibians : Rana pipiens and Xenopus laevis.
J. exper. Zool., 168, pp. 379-386.

VAINSON A.A. & KUZIN A.M. - 1966 - Synthesis of DNA when cytoplasm and nuclei of He La cells are irradiated with a microbeam of alpha-rays.
Dokl. Akad. Nauk. SSSR, 165, pp. 933-936.

VON BORSTEL R.C. - 1955 - Feulgen-negative division in Habrobracon eggs after lethal exposure to X-rays or nitrogen mustard.
Nature, G.B., 175, pp. 342-343.

- 1957 - The beginnings of embryonic development. A symposium.
Amer. Assoc. Adv. Sci. Publ., 48, p. 157.

WHEELER W.M. - 1889 - The embryology of Blatta germanica and Doryphora decem-lineata.
J. Morphol., 3, pp. 291-386.

WHITING A.R. - 1950 - Absence of mutagenic action of X-rayed cytoplasm in Habrobracon.
Proc. nat. Acad. Sci. U.S., 36, pp. 368-372.

- 1955 - Androgenesis as evidence for the nature of X-ray-induced injury.
Rad. Res., 2, pp. 71-78.

WIEMAN H.L. - 1910 - The pole disc of chrysomelid eggs.
Biol. Bull., 18, pp. 180-187.

WILLIAMS M.A. & SMITH D. - 1971 - Ultrastructure of the "germinal plasm" during maturation and early cleavage in Rana pipiens.
Devel. Biol., 25, pp. 568-580.

WOLF R. - 1967 - Der Feinbau Oosoms normaler und zentrifugierter Eier der Gallmücke Wachtliella persicariae L. (Diptera).
Wilhelm Roux' Archiv., 158, pp. 459-462.

WÜRGLER F.E., ULRICH H. & SCHNEIDER-MINDER A. - 1963 - Variations of radio-sensitivity during meiosis and early cleavage in newly laid eggs of Drosophila melanogaster. in :
Repair from Genetic Radiation (SOBELS), pp. 101-106, Pergamon Press, Oxford.

ZIRKLE R.E. & BLOOM W. - 1953 - Irradiation of parts of individual cells.
Science, 117, pp. 487-493.

TABLEAUX ET FIGURES

PLACES EN ANNEXE

Tableau : Annexe 1

Irradiation au cours des 3 premiers cycles mitotiques de la segmentation.

Dose en rads	Nombre de pontes	Nombre d' oeufs	Nombre d' éclosions	Pourcentage d'éclosion *	
10^2	10	358	234	65	(60 - 70)
$2.\ 10^2$	9	249	132	53	(46 - 60)
$3.\ 10^2$	8	439	207	47	(43 - 51)
$4.\ 10^2$	6	197	69	35	(28 - 42)
$5.\ 10^2$	31	987	235	23	(20 - 26)
	8 (1)	339	82	24	(19 - 29)
$6.\ 10^2$	27	885	140	16	(14 - 18)
$7.\ 10^2$	25	701	93	13	(10 - 16)
$8.\ 10^2$	28	1116	106	10	(8 - 12)
$9.\ 10^2$	6	288	18	6	(3 - 10)
10^3	7	321	12	4	(2 - 7)
$1,\ 1.\ 10^3$	8	355	9	2, 5	(1, 2 - 5)

* Intervalle de confiance du pourcentage au risque 5 %.

(1) Développement à 17, 5°C.

Tableau : Annexe 2

Irradiation après 12 (± 2) heures de développement à 25°C.

Dose en rads	Nombre de pontes	Nombre d' oeufs	Nombre d' éclosions	Pourcentage d'éclosion *
10^2	9	434	349	80 (76 - 83)
$2.\ 10^2$	16	604	334	55 (51 - 59)
$3.\ 10^2$	9	341	98	29 (24 - 34)
$4.\ 10^2$	8	328	43	13 (9 - 18)
$4,5.\ 10^2$	4	143	15	10 (6 - 16)
$5.\ 10^2$	15	547	38	7 (5 - 9)
$6.\ 10^2$	20	596	21	3, 5 (2 - 5, 5)
$7.\ 10^2$	10	298	5	1, 5 (0, 5 - 4)
$9.\ 10^2$	19	484	0	0 (0 - 0, 7)

* Intervalle de confiance du parcentage au risque 5 %.

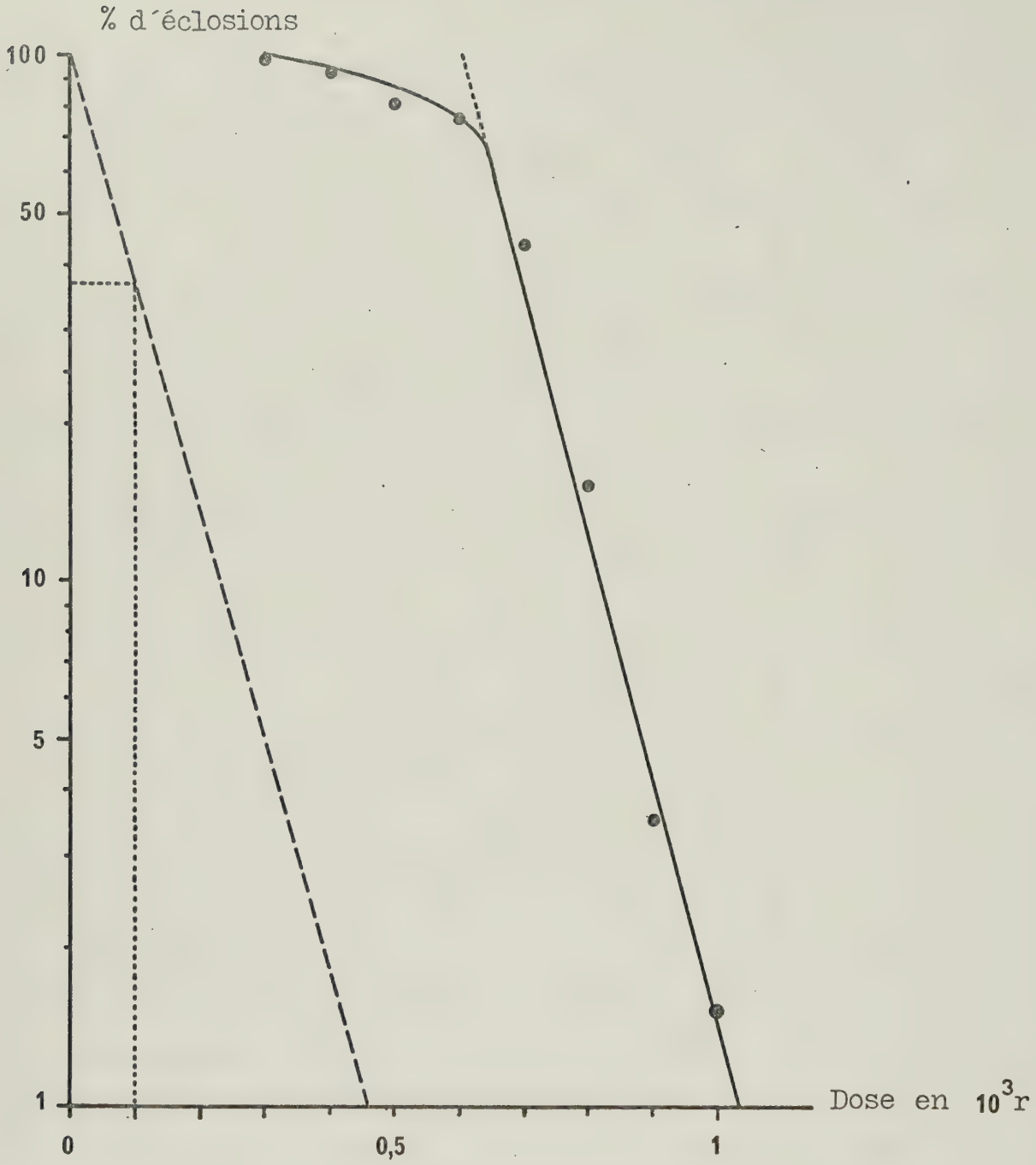


Fig. Annexe_3_ Courbe effet_dose . Stade irradié: 1,5 jour à 25

Tableau : Annexe 3

Irradiation après 1 jour et demi de développement à 25°C.

Dose en rads	Nombre de pontes	Nombre d' oeufs	Nombre d' éclosions	Pourcentage d'éclosion *
$3.\ 10^2$	8	292	286	98 (95, 5 - 99, 3)
$4.\ 10^2$	8	260	240	92 (88 - 95)
$5.\ 10^2$	15	666	535	80 (76 - 83)
$6.\ 10^2$	8	339	254	75 (70 - 80)
$7.\ 10^2$	10	424	182	43 (39 - 47)
$8.\ 10^2$	7	234	35	15 (10 - 21)
$9.\ 10^2$	6	152	5	3, 3 (1 - 7)
10^3	16	545	8	1, 5 (0, 6 - 3)

* Intervalle de confiance du pourcentage au risque 5 %.

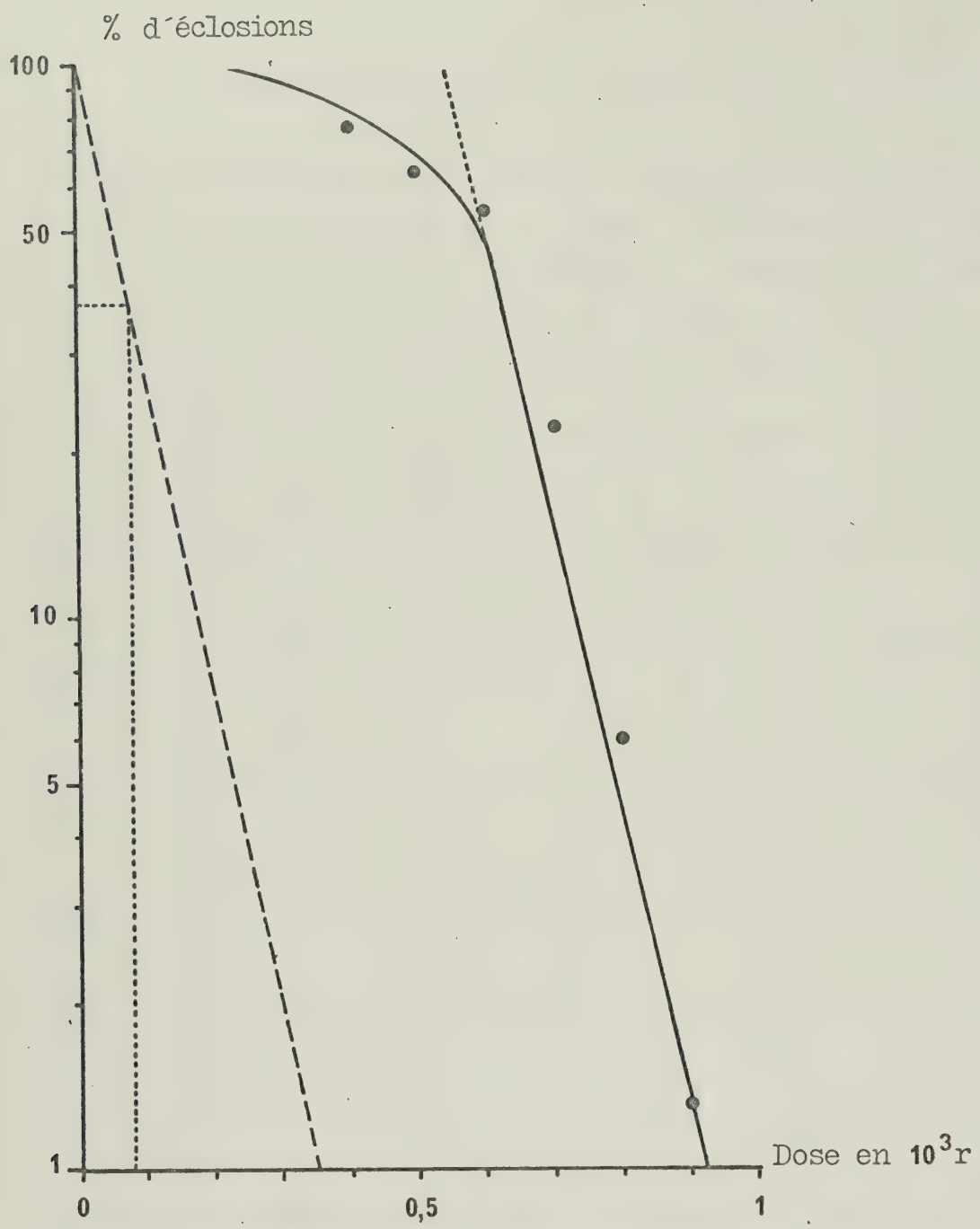


Fig. Annexe_4_ Courbe effet_dose. Stade irradié: 2 jours à 25°.

Tableau : Annexe 4

Irradiation après 2 jours de développement à 25°C.

Dose en rads	Nombre de pontes	Nombre d' oeufs	Nombre d' éclosions	Pourcentage d'éclosion *
$2.\ 10^2$	6	244	237	97 (94 - 99)
$3.\ 10^2$	6	249	231	93 (89 - 96)
$4.\ 10^2$	3	125	95	76 (66 - 84)
$5.\ 10^2$	5	150	95	63 (53 - 72)
$6.\ 10^2$	5	259	140	54 (47 - 61)
$7.\ 10^2$	7	359	79	22 (18 - 26)
$8.\ 10^2$	9	301	18	6 (3 - 9)
$9.\ 10^2$	8	385	5	1, 3 (0, 4 - 3)
10^3	9	362	0	0 (0 - 1)

* Intervalle de confiance du pourcentage au risque 5 %.

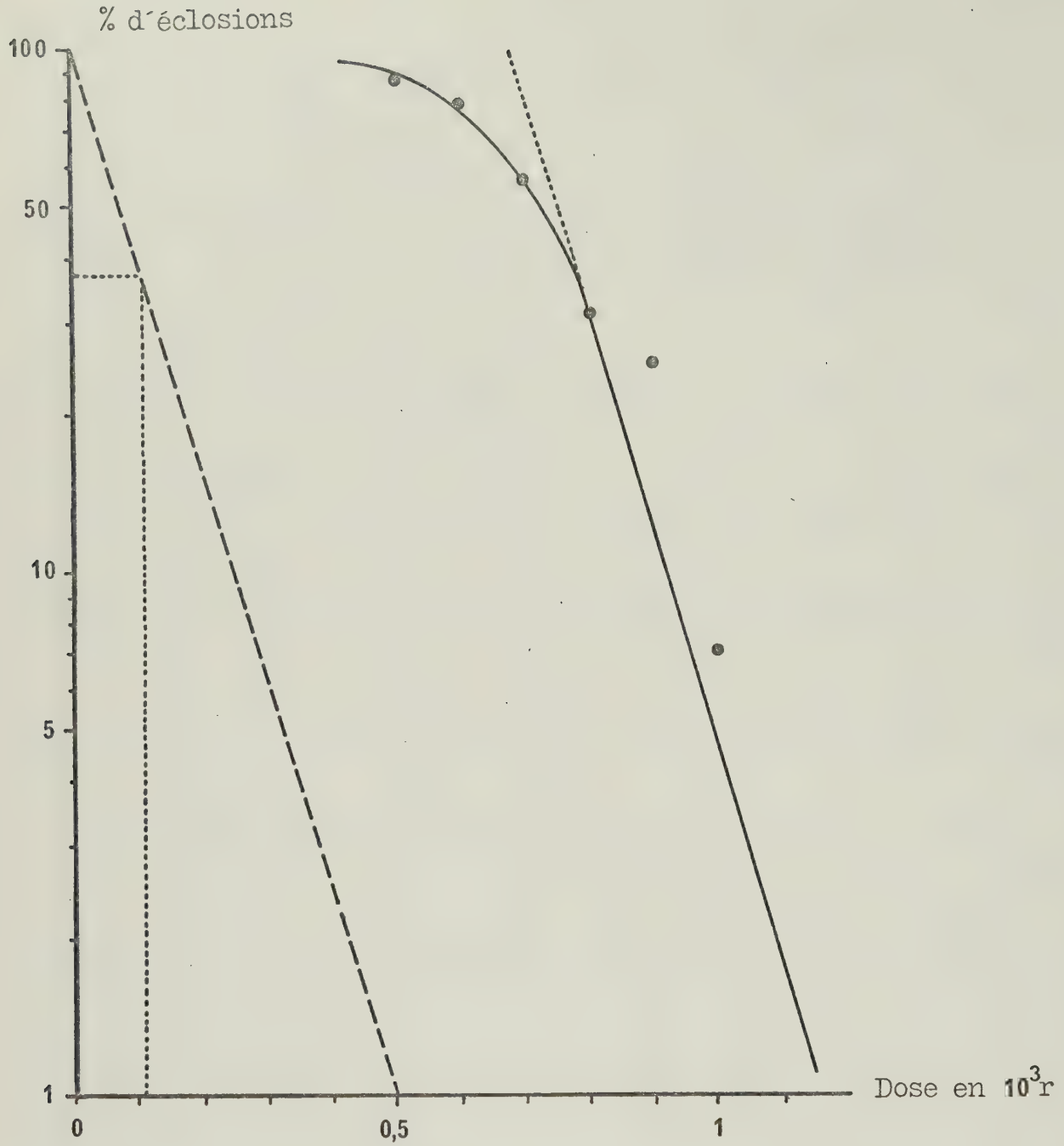


Fig. Annexe_5_ Courbe effet_dose . Stade irradié : 2 jours à 25°.

Tableau : Annexe 5

Irradiation après 2 jours et demi de développement à 25°C.

Dose en rads	Nombre de pontes	Nombre d' oeufs	Nombre d' éclosions	Pourcentage d'éclosion *
$5.\ 10^2$	6	162	139	86 (79 - 91)
$6.\ 10^2$	7	184	141	77 (70 - 83)
$7.\ 10^2$	12	247	139	56 (49 - 63)
$8.\ 10^2$	4	154	48	31 (24 - 39)
$9.\ 10^2$	10	264	86	25 (19 - 32)
10^3	20	881	61	7 (6 - 9)
$1,\ 2.\ 10^3$	24	749	1	0 (0 - 0, 7)

* Intervalle du pourcentage de confiance au risque 5 %.

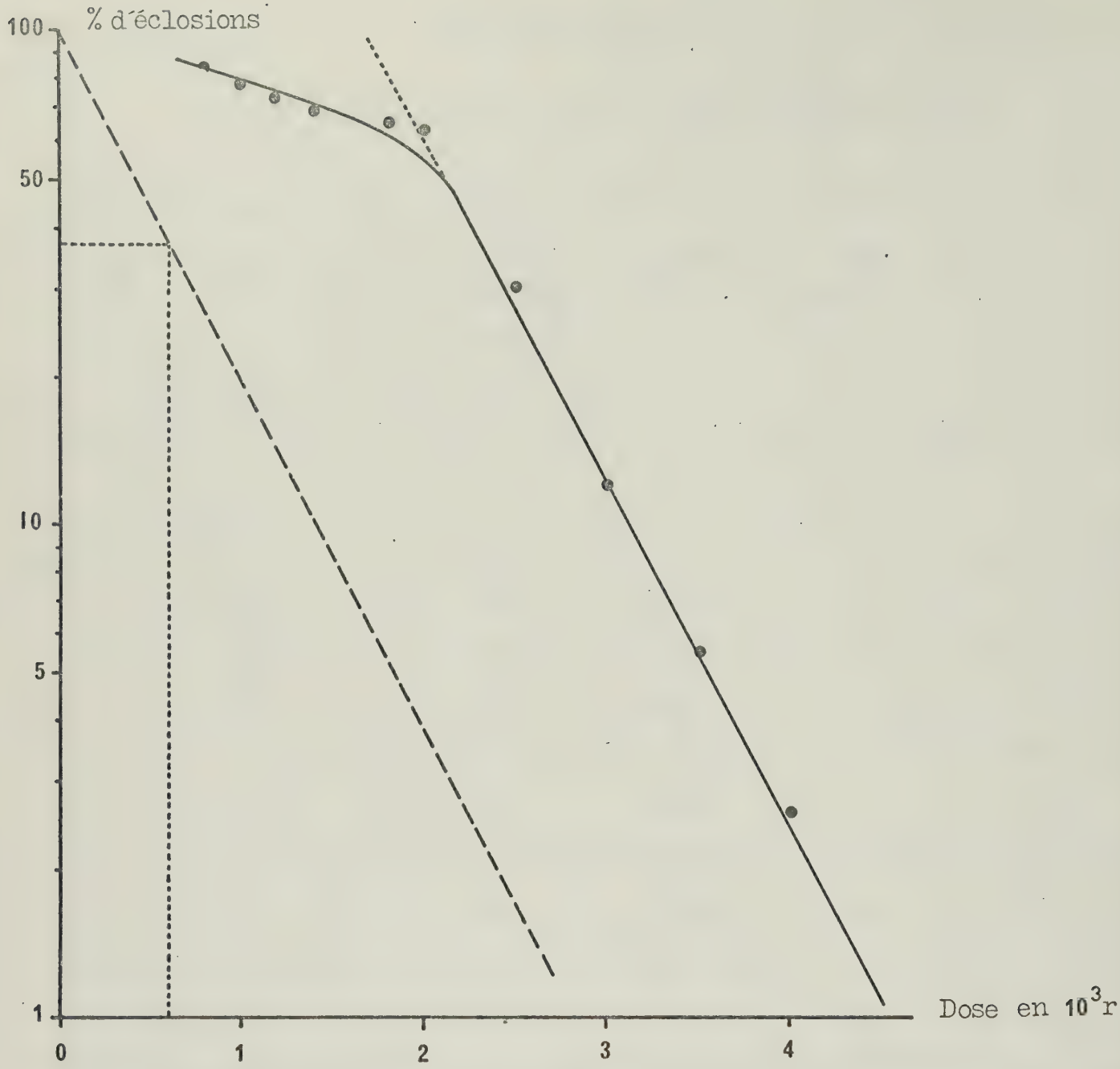


Fig.Annexe_6_ Courbe effet_dose. Stade irradié : 3 jours à 25°.

Tableau : Annexe 6

Irradiation après 3 jours de développement à 25°C.

Dose en rads	Nombre de pontes	Nombre d' oeufs	Nombre d' éclosions	Pourcentage d'éclosion *
$8.\ 10^2$	8	226	189	84 (78 - 89)
10^3	12	358	276	77 (71 - 82)
$1,\ 2.\ 10^3$	12	361	267	74 (68 - 79)
$1,\ 4.\ 10^3$	13	416	288	69 (65 - 73)
$1,\ 8.\ 10^3$	11	285	184	65 (59 - 71)
$2.\ 10^3$	11	330	204	62 (57 - 67)
$2,\ 5.\ 10^3$	14	290	86	30 (25 - 36)
$3.\ 10^3$	4	152	18	12 (7 - 19)
$3,\ 5.\ 10^3$	7	308	17	5, 5 (3, 5 - 9)
$4.\ 10^3$	6	193	5	2, 6 (0, 8 - 6)

* Intervalle de confiance du pourcentage au risque 5 %.

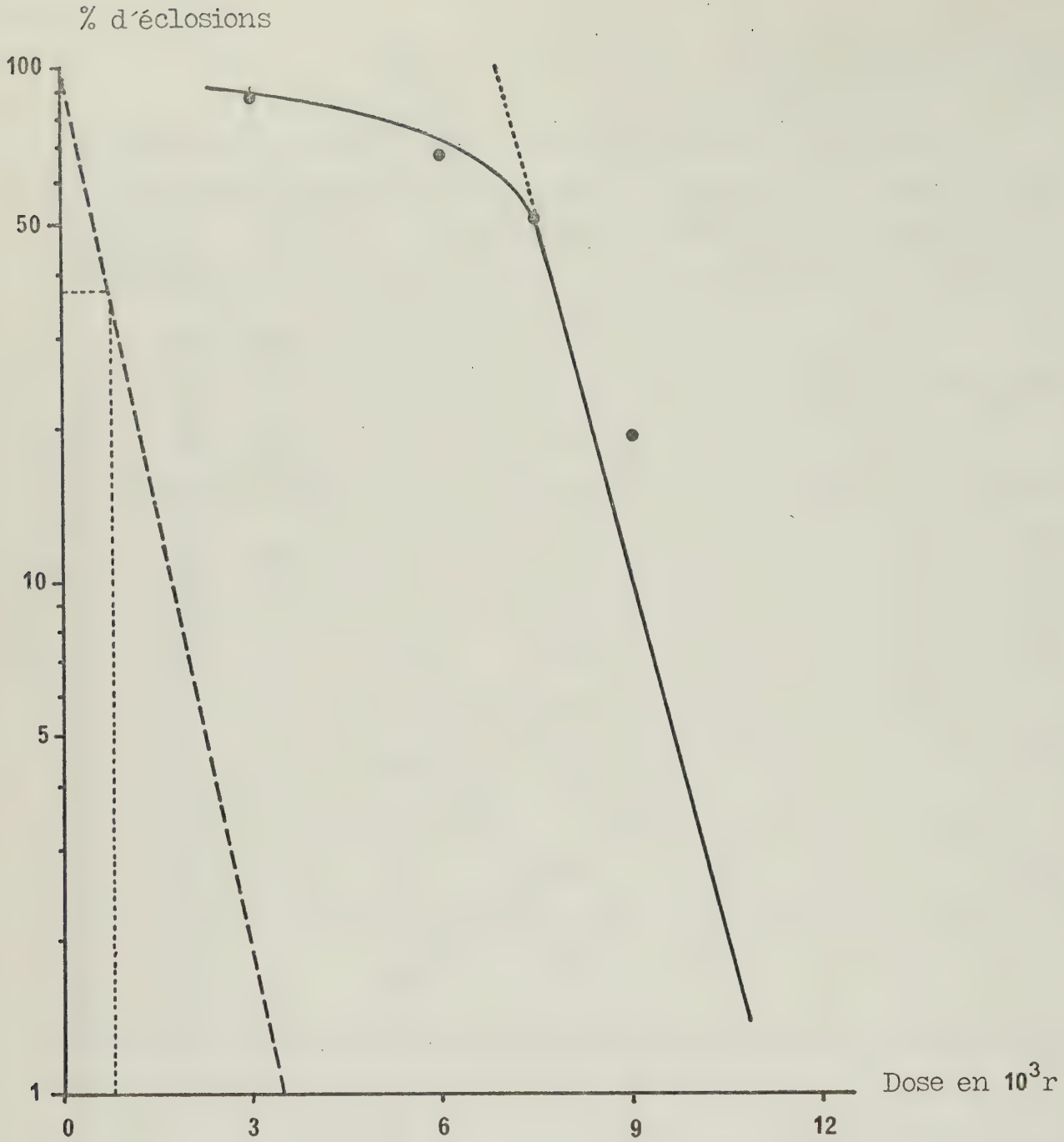


Fig. Annexe_7_ Courbe effet_dose. Stade irradié: 3,5 jours à 25°.

Tableau : Annexe 7

Irradiation après 3 jours et demi de développement à 25°C.

Doses en rads	Nombre de pontes	Nombre d' oeufs	Nombre d' éclosions	Pourcentage d'éclosion *
$3.\ 10^3$	10	379	333	88 (85 - 90)
$6.\ 10^3$	15	507	345	68 (64 - 72)
$7,5.\ 10^3$	9	229	114	50 (43 - 57)
$9.\ 10^3$	14	479	92	19 (16 - 23)
$1,2.\ 10^4$	10	418	0	0 (0 - 0, 9)

* Intervalle de confiance du pourcentage au risque 5 %.

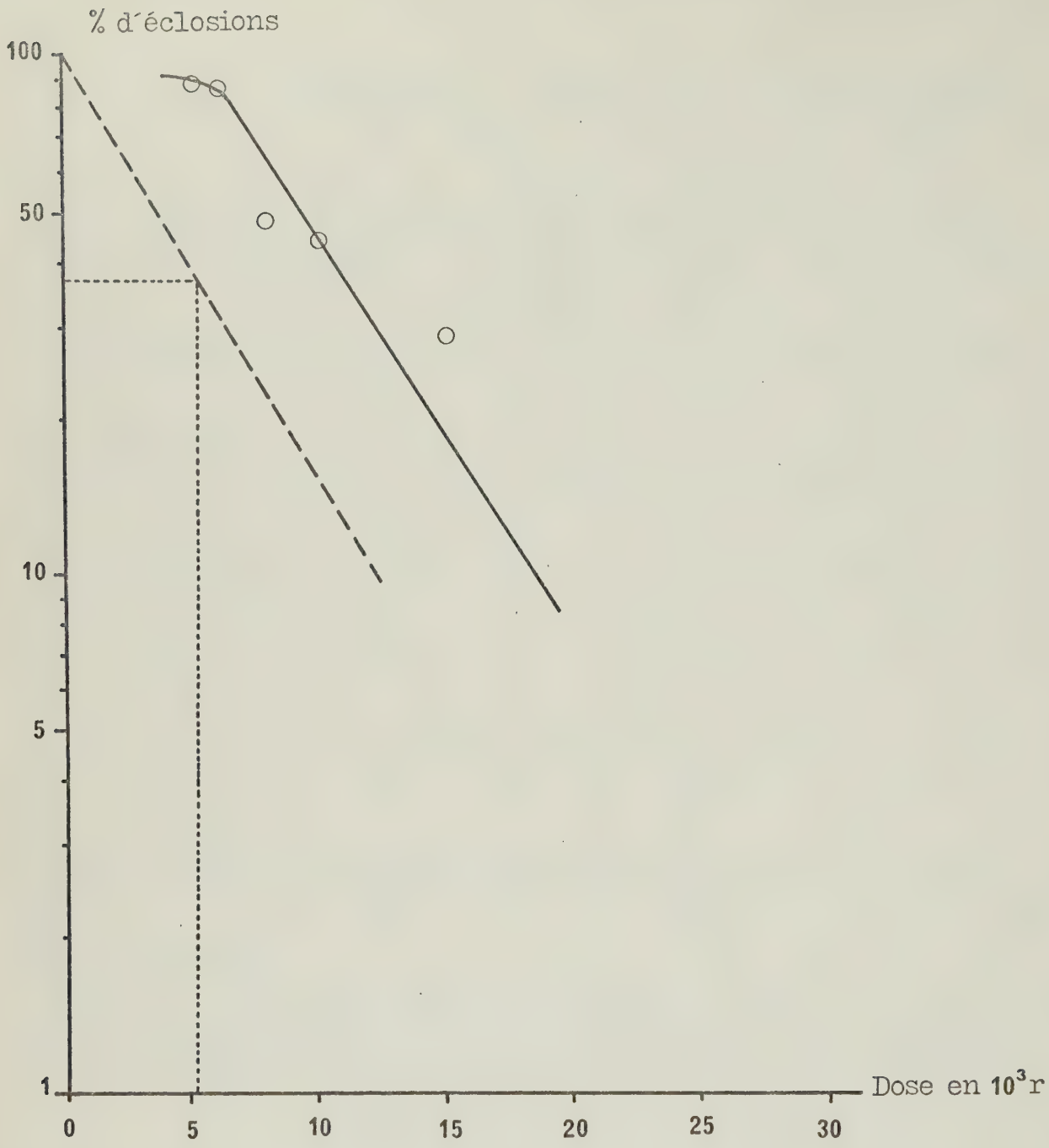


Fig. Annexe_8_ Courbe effet_dose. Stade irradié: 4 jours à 25°.

Tableau : Annexe 8

Irradiation après 4 jours de développement à 25°C.

Dose en rads	Nombre de pontes	Nombre d' oeufs	Nombre d' éclosions	Pourcentage d'éclosion *	
$5.\ 10^3$	10	329	294	89	(85 - 92)
$6.\ 10^3$	8	221	193	87	(81 - 92)
$8.\ 10^3$	8	207	99	48	(41 - 55)
10^4	11	245	108	44	(37 - 51)
$1,5.\ 10^4$	6	166	48	29	(22 - 37)
$2,5.\ 10^4$	6	182	0	0	(0 - 2)

* Intervalle de confiance du pourcentage au risque 5 %.

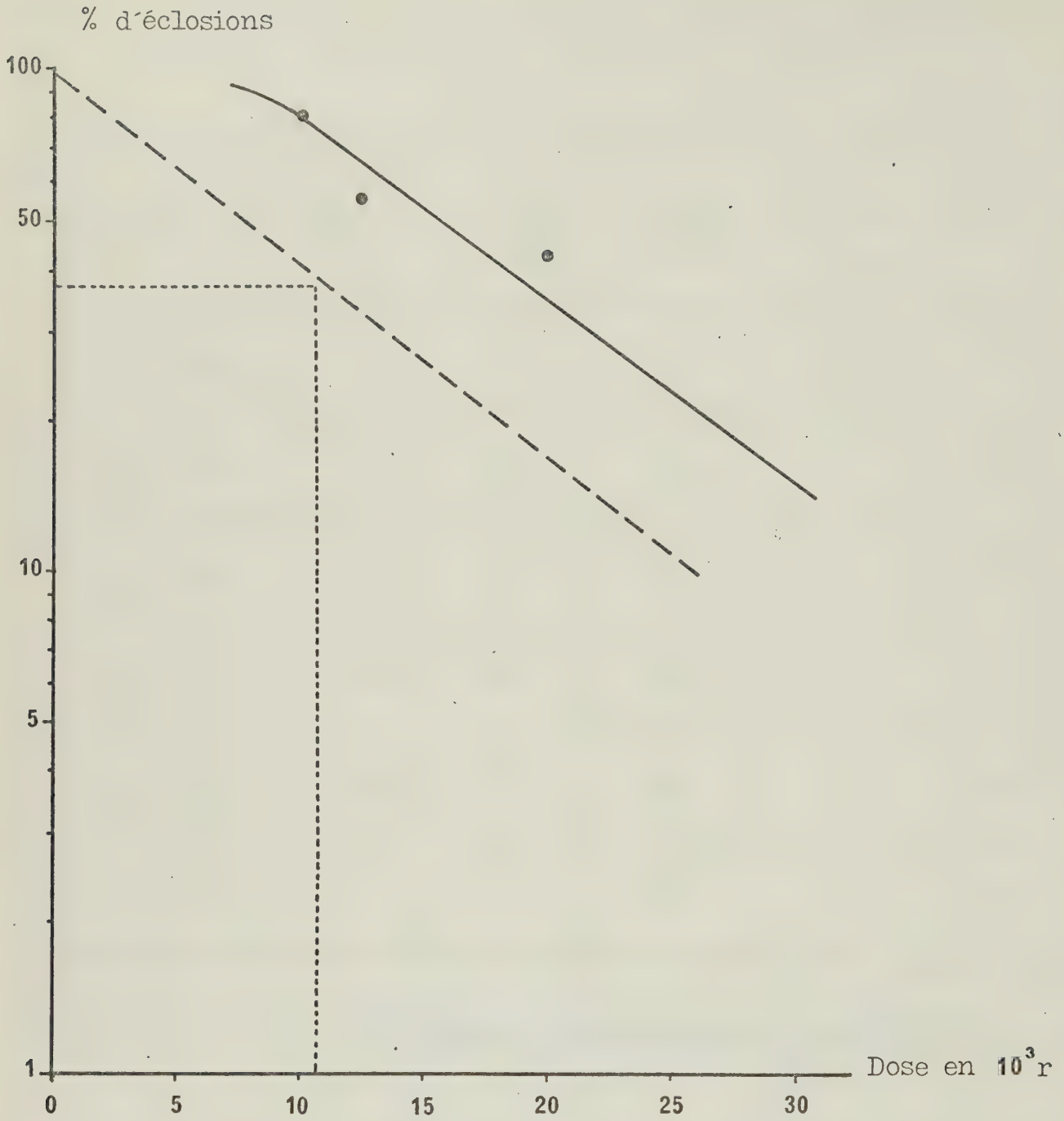


Fig. Annexe_9_ Courbe effet_dose . Stade irradié:4,5 jours à 25°.

Tableau : Annexe 9

Irradiation après 4 jours et demi de développement à 25°C.

Dose en rads	Nombre de pontes	Nombre d' oeufs	Nombre d' éclosions	Pourcentage d'éclosion *
10^4	5	118	94	80 (71 - 87)
1, 2. 10^4	9	256	141	55 (48 - 62)
2. 10^4	5	162	68	42 (34 - 50)
3. 10^4	5	155	23	15 (10 - 22)

* Intervalle de confiance du pourcentage au risques 5 %.

Imprimerie Claude Bernard - PARIS 5e

707.73.16